

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad antioxidante y antiinflamatoria
del extracto hidroalcohólico de las flores de
Tanacetum parthenium L. Sch. Bip. "santa maría".

Ayacucho, 2014.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:

Bach. HUAYANAY PALOMINO, Franco Junior

AYACUCHO - PERÚ

2015

Biblioteca U.N.S.C.M.
INGRESO: 185236

Tesis
Far 425
Hua
Ej. 1

Acta de Sustentación de Tesis
R.D. 288-FC de la S-UNSCH-2015
Bach. Franco Junior Huayanay Palomino

En la ciudad de Ayacucho, a los dieciséis días del mes de diciembre del dosmilquince, a las diez de la mañana, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, se reunieron los miembros del Jurado Calificador precedido por el Dr. Emilio Ramírez Roca e integrado por el Dr. Aldo Tinco Jayo y el Mg. Marco Aronés Jara (secretario-miembro) para recepcionar el trabajo de tesis titulado *Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de Tanacetum parthenium "santa maría". Ayacucho, 2014.*

El Presidente del Jurado, invita al sustentante a exponer el trabajo de tesis durante el tiempo reglamentario.

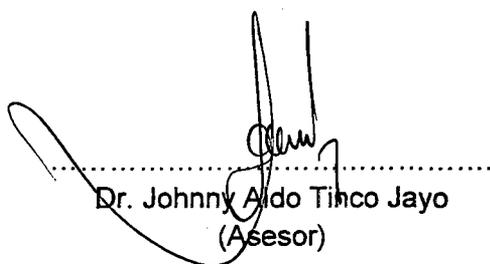
Acto seguido, el Presidente invita a los miembros del jurado a realizar las observaciones y/o preguntas pertinentes.

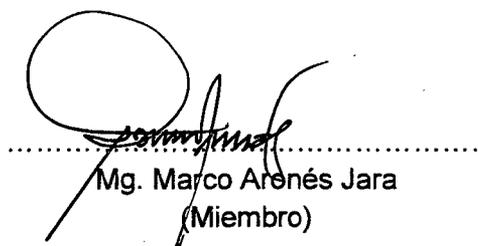
Terminada esta etapa, el Presidente solicita al sustentante a abandonar el auditorio, de igual manera al público, para que se realice la evaluación y calificación respectiva.

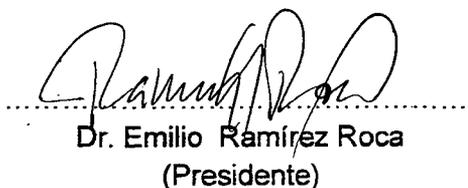
	Nota texto	Nota Exp.	Nota pgtas.	Promedio
Dr. Q.F. Emilio Ramírez Roca	17	17	17	17
Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17	17
Mg. Q.F. Marco Aronés Jara	17	17	17	17
Promedio	17	17	17	17

De la evaluación del trabajo, el Jurado Calificador, determinó aprobar por unanimidad la tesis presentado por el Bach. Franco Junior Huayanay Palomino con la nota de Diecisiete (17).

Siendo las once y media, se da por finalizado el presente acto académico, firmado al pie de la presente Acta los miembros del Jurado, en señal de conformidad.


Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo
(Asesor)


Mg. Marco Aronés Jara
(Miembro)


Dr. Emilio Ramírez Roca
(Presidente)

A mis padres.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo, por su orientación en la ejecución de este trabajo de tesis.

A todas las personas que me apoyaron en el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip.	3
2.2.1. Clasificación taxonómica (Anexo 1)	3
2.2.2. Descripción botánica	4
2.3. Fisiopatología de la inflamación	5
2.4. Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la inflamación	7
2.5. Radicales libres	8
2.6. Radicales libres y patologías asociadas	9
2.7. Estrés oxidativo y antioxidantes	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación	13
3.2. Población y muestra	13
3.3. Animales de experimentación	13
3.4. Diseño metodológico para la recolección de datos	13
3.4.1. Recolección de la muestra	13
3.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico	13
3.4.3. Elaboración de los ungüentos	13
3.4.4. Ensayo fitoquímico cualitativo	14
3.4.5. Actividad secuestradora del radical libre DPPH	14
3.4.6. Diseño experimental	15
3.4.7. Actividad antiinflamatoria	15
4. Análisis estadístico	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXO	37

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Acción de los principales mediadores de la inflamación.	7
Tabla 2	Principales grupos de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).	12
Tabla 3	Diseño experimental para la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	15
Tabla 4	Ensayos químicos cualitativos del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	18

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Estructura química del partenólido, una sesquiterpenlactona de <i>Tanacetum parthenium</i> .	4
Figura 2	Generación de metabolitos del ácido araquidónico y su papel en la inflamación.	6
Figura 3	Representación esquemática de la acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), glucocorticoides (GC) e inductores de la expresión sobre la COX-1 y COX-2.	11
Figura 4	Estructura molecular del diclofenaco.	11
Figura 5	Variación del volumen de inflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	19
Figura 6	Variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	20
Figura 7	Variación del porcentaje de desinflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	21
Figura 8	Área bajo la curva (ABC) del volumen de inflamación a través del tiempo según tratamiento con diclofenaco y extractos hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.	22
Figura 9	Porcentaje de actividad antioxidante <i>in vitro</i> de los extractos hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría" y vitamina C. Ayacucho, 2014.	23

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1	Certificado de clasificación botánica de <i>Tanacetum parthenium</i> .	39
Anexo 2	<i>Tanacetum parthenium</i> en su hábitat natural.	40
Anexo 3	Ungüentos base a diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólicos de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	41
Anexo 4	Medición pletismométrica de la pata inflamada de rata.	42
Anexo 5	Volúmenes de inflamación en mililitros y áreas bajo la curva en la determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	43
Anexo 6	Porcentaje de inflamación en función del tiempo.	44
Anexo 7	Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH de la vitamina C y el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	45
Anexo 8	Prueba de HSD de Tukey. Subconjuntos homogéneos de las medias del porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	46
Anexo 9	Prueba de Dunnett bilateral del porcentaje de actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	47
Anexo 10	Prueba de Duncan. Subconjuntos homogéneos de las medias del porcentaje de actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	48
Anexo 11	Fórmula del ungüento base a partir del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch. Bip. "santa maría".	49
Anexo 12	Matriz de consistencia.	50

RESUMEN

Los procesos inflamatorios no controlados producen daño celular donde los radicales libres están presentes y representan un peligro para la vida del paciente, en este contexto la búsqueda de moléculas de origen vegetal son incesantes por su aceptación cultural, una mejor compatibilidad con el cuerpo humano y menos efectos secundarios. El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría", empleando la técnica *in vitro* del DPPH y el modelo *in vivo* de edema plantar inducida por carragenina en ratas Wistar. Se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. La muestra fue recolectada en la ciudad de Huancayo, región Junín. Se ensayó concentraciones de 1, 2 y 3% en ungüentos base como vehículo semisólido usando el estándar de referencia diclofenaco gel 1%. El extracto hidroalcohólico contiene fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos. La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antiinflamatoria fue al 3%, con un porcentaje de desinflamación del 84.6% (porcentaje de inflamación de 15.4%) y con un ABC de 6,214 ml/t². La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antioxidante fue a 100 µg/ml, con un porcentaje de 63,9%. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" tiene poca actividad antioxidante *in vitro* pero buena actividad antiinflamatoria *in vivo* estadísticamente similar al diclofenaco por lo que constituyen una fuente potencial para el tratamiento antiinflamatorio tópico.

Palabras clave: Antioxidante, antiinflamatorio, *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip., "santa maría".

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente el tema de los antioxidantes ha venido adquiriendo mucha importancia en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades que cursan con procesos inflamatorios subyacentes con producción de radicales libres.

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo por medio de reacciones bioquímicas de oxidación reducción con oxígeno, que tienen lugar por el metabolismo normal de las células, por los fagocitos, en una reacción inflamatoria controlada; pero, ¿Qué pasa con las enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide? Sin duda, cada vez hay más evidencia de que las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS) a menudo pueden ayudar a modular la inflamación, lo que garantiza que no se convierta en demasiado prolongada,¹ pero también está claro que un desbalance de éstos ocasiona daño celular o estrés oxidativo sobre diferentes macromoléculas como lípidos, proteínas y ADN.² Se ha descubierto también, entre múltiples patologías, que el estrés oxidativo y la inflamación contribuyen a la disfunción contráctil del diafragma observado en modelos animales de sepsis y endotoxemia.³

Esta problemática, motiva la búsqueda de antioxidantes de origen vegetal con propiedades eliminadoras de radicales libres que podrían tener gran importancia como agentes terapéuticos en varias enfermedades inflamatorias causadas por estrés oxidativo por lo que *Tanacetum parthenium* representa una gran alternativa al respecto.

Dado que la medicina herbaria es todavía el pilar de aproximadamente el 75-80% de la población mundial principalmente en los países en desarrollo, dentro de la atención primaria de la salud debido a una mejor aceptación cultural, una mejor compatibilidad con el cuerpo humano y menos efectos secundarios.⁴

Desarrollar trabajos de investigación con plantas medicinales para demostrar sus posibles efectos terapéuticos representa un hecho que contribuye a generar conocimientos y enriquecer el acervo científico en materia de fitomedicamentos,

lo que sirve para darle validez al conocimiento tradicional o empírico y abrir las puertas para más estudios en relación con el uso racional, seguridad y eficacia de esta planta.

En este contexto, nos orientamos en tal línea de investigación de tal forma que surge como producto este informe, en donde se plasman los resultados de un estudio experimental con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

Objetivos específicos

Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría" mediante tamizaje fitoquímico.

Determinar la concentración de mayor actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

Determinar el porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

La búsqueda de moléculas de origen vegetal para el tratamiento de trastornos relacionados con la inflamación y el estrés oxidativo son incesantes por lo que podemos encontrar una gran diversidad de trabajos cuyo aporte ha permitido avanzar en temas de terapéutica hasta la fecha.

Se ha descrito el partenólido como uno de los primeros productos naturales modulador del factor nuclear kappa B, un factor de transcripción implicado en muchas cascadas de señalización que desempeña un papel crucial en condiciones inflamatorias agudas y crónicas.⁵

Mathema y *et al.* estudiaron las propiedades biológicas del partenólido, una sesquiterpenlactona presente en *Tanacetum parthenium*, llegando a demostrar que este posee actividad anticancerígena excepcional y propiedades antiinflamatorias, por lo que representa un candidato importante para futuros estudios y el desarrollo de fármacos.⁶ De otro lado, pruebas farmacológicas indican que tanetina, un flavonol de *Tanacetum parthenium*, podría contribuir a sus propiedades antiinflamatorias.⁷

2.2. *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip.

2.2.1. Clasificación taxonómica (Anexo 1)

DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GENERO	: TANACETUM
ESPECIE	: <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip.
N. V.	: "santa maría"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis*- 2014

2.2.2. Descripción botánica

Tanacetum parthenium es una planta herbácea perenne, aromática, de hasta un metro de altura. Hojas ovaladas a oblongo-aovadas de 12 cm, las inferiores pinnadas y pinnatisectas, las superiores pinnatipartidas; segmentos dos a tres pares, dentados, obtusos. Muchas cabezuelas de hasta dos centímetros de diámetro; el disco amarillo; las flores radiadas blancas.⁸

2.2.3. Usos medicinales

Tanacetum parthenium es una planta medicinal utilizada tradicionalmente en el tratamiento de fiebres, dolores de cabeza por migraña, artritis reumatoide, dolores de estómago, dolores de muelas, picaduras de insectos, infertilidad, problemas con la menstruación y el trabajo durante el parto. También se ha utilizado contra la psoriasis, alergias, asma, zumbido de oídos, mareos, náuseas y vómitos.⁹

2.2.4. Composición química

La composición química de *Tanacetum parthenium* es variada. Se ha identificado una serie de flavonoides lipofílicos presentes en las hojas y flores de *Tanacetum parthenium* y *Tanacetum vulgare* que demostraron propiedades antiinflamatorias.¹⁰ Partenólido (Figura 1), una sesquiterpenlactona, es característica de este género.⁸ Respecto a este metabolito, un trabajo reveló que las cabezas florales contenían más de cuatro veces la cantidad de este metabolito farmacológicamente activo que las hojas.¹¹ El aceite esencial está presente tanto en las etapas de pre-floración, floración y post-floración con rendimientos de 0,85; 1,02 y 0,75% (volumen/peso, en base a masa seca), respectivamente.¹² Un flavonol lipofílico, tanetina, se ha caracterizado en la hoja, flor y semilla, así como flavonoles glicosídicos hidrosolubles identificados como apigenina 7-glucurónido, luteolin 7-glucurónido, luteolina 7-glucosido y crisoeriol 7-glucurónido en las hojas.¹⁰

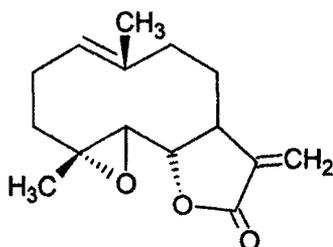


Figura 1. Estructura química del partenólido, una sesquiterpenlactona de *Tanacetum parthenium*.⁹

2.3. Fisiopatología de la inflamación.

La inflamación es una reacción tisular compleja que consiste básicamente en respuestas de los vasos y los leucocitos. Las principales defensas corporales frente a los invasores extraños son las proteínas plasmáticas y los leucocitos circulantes, pero también los fagocitos tisulares derivados de las células circulantes. La respuesta inflamatoria coordina las reacciones de los vasos, los leucocitos y las proteínas plasmáticas orientadas a conseguir este objetivo. Las reacciones vascular y celular de la inflamación se activan mediante factores solubles producidos por diversas células o generados a partir de las proteínas plasmáticas, y se activan o producen en respuesta al estímulo inflamatorio. Los microbios, las células necróticas e incluso la hipoxia pueden activar la elaboración de los mediadores de la inflamación, provocando así una respuesta inflamatoria (Tabla 1). Estos mediadores inician y amplifican la respuesta inflamatoria y condicionan el patrón, la intensidad y el tipo de manifestaciones clínicas y patológicas. La inflamación puede ser aguda o crónica en función de la naturaleza del estímulo y la eficacia de la reacción inicial para eliminar el estímulo o los tejidos lesionados. La inflamación aguda se caracteriza, sobre todo, por la exudación de líquido y proteínas plasmáticas (edema) y la emigración de leucocitos, sobre todo neutrófilos (llamados también polimorfonucleares neutrófilos). Cuando la inflamación aguda consigue eliminar con éxito a los responsables del daño, la reacción desaparece, pero cuando la respuesta no consigue eliminarlos, se puede evolucionar a una fase crónica. La inflamación crónica puede aparecer después de la inflamación aguda o ser insidiosa desde el comienzo. Dura más y se asocia a la presencia de linfocitos y macrófagos, proliferación vascular, fibrosis y destrucción tisular. La inflamación termina cuando se elimina el agente responsable del daño. La reacción se resuelve con rapidez, porque los mediadores se degradan y dispersan, y porque la vida de los leucocitos en los tejidos es corta. Además, se activan mecanismos antiinflamatorios que tratan de controlar la respuesta y evitar que ocasione lesiones excesivas al anfitrión. La inflamación puede resultar lesiva en algunas situaciones: los mecanismos diseñados para destruir a los invasores extraños y los tejidos necróticos tienen una capacidad intrínseca de lesionar los tejidos normales. Cuando la inflamación se dirige de forma inadecuada frente a los tejidos propios y no se controla de forma adecuada, se convierte en la causa de lesiones y enfermedades.¹³

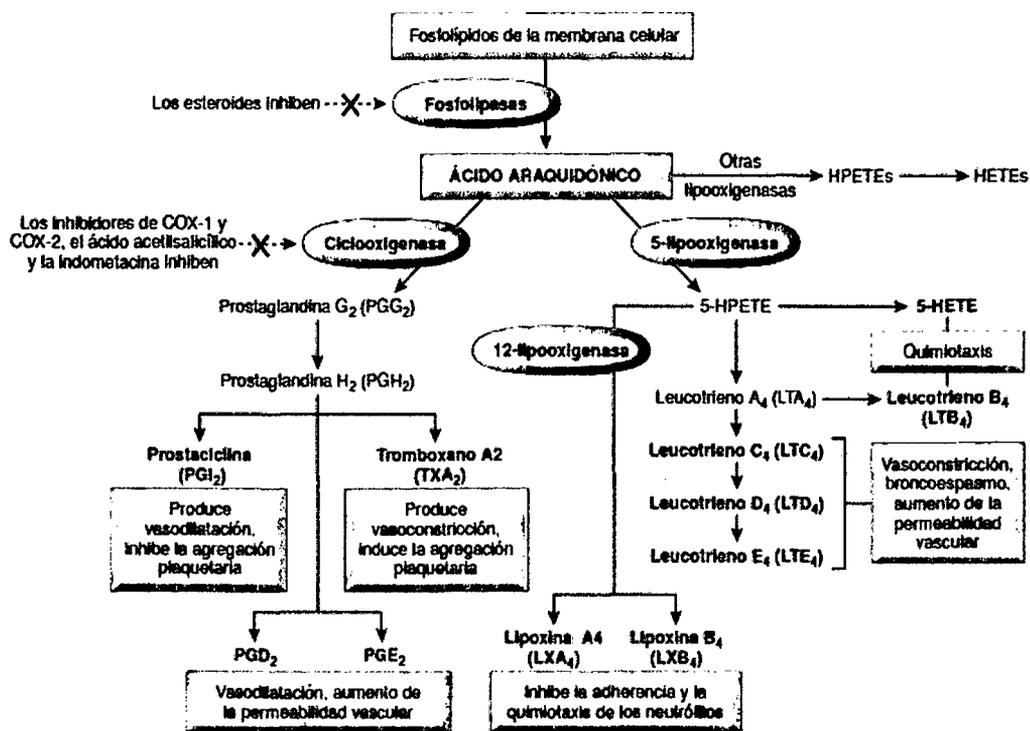


Figura 2. Generación de metabolitos del ácido araquidónico y su papel en la inflamación. Las dianas moleculares de la acción de algunos fármacos antiinflamatorios se marcan con una X roja. No se muestran los agentes que inhiben la producción de leucotrienos mediante la inhibición de la 5-lipooxigenasa o que bloquean los receptores de leucotrienos. COX, ciclooxigenasa; HETE, ácido hidroieicosatetranoico; HPETE, ácido hidroperoxieicosatetranoico.¹³

La progresión de la respuesta a inflamación crónica puede producirse tras la inflamación aguda o ser una respuesta crónica desde el principio. La transición de agudo a crónico se produce cuando no se consigue resolver la respuesta inflamatoria aguda, por persistencia del agente lesivo o por alguna interferencia con el proceso de curación normal. Por ejemplo, la infección aguda bacteriana pulmonar puede empezar con un foco de inflamación aguda (neumonía), pero la incapacidad de resolverlo puede ocasionar una destrucción extensa del tejido con formación de una cavidad en la cual persiste una inflamación mantenida, que culmina en un absceso crónico pulmonar. Otro ejemplo de inflamación crónica secundaria a un estímulo persistente es la úlcera péptica duodenal o gástrica. Las úlceras pépticas pueden persistir durante meses o años y, se manifiestan mediante reacciones inflamatorias agudas y crónicas.¹³

Tabla 1. Acción de los principales mediadores de la inflamación.¹³

Mediador	Fuente principal	Acción
DERIVADOS DE LAS CÉLULAS		
Histamina	Mastocitos, basófilos, plaquetas	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, activación endotelial
Serotonina	Plaquetas	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular
Prostaglandinas	Mastocitos, leucocitos	Vasodilatación, dolor, fiebre
Leucotrienos	Mastocitos, leucocitos	Aumento de la permeabilidad vascular, adherencia y activación de los leucocitos.
Factor activador de las plaquetas	Leucocitos, mastocitos	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular adherencia leucocitaria, quimiotaxis, desgranulación, explosión oxidativa.
Especies reactivas del oxígeno	Leucocitos	Destrucción de los microbios, lesión tisular.
Óxido nítrico	Endotelio, macrófagos	Relajación del músculo liso vascular, destrucción de los microbios
Citocinas (TNF, IL-1)	Macrófagos, células endoteliales, mastocitos	Activación endotelial local (expresión de moléculas de adherencia), fiebre/dolor/anorexia/hipotensión, reducción de la resistencia vascular (shock)
Quimiocinas	Leucocitos, macrófagos activados	Quimiotaxis, activación de los leucocitos
DERIVADOS DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS		
Productos del complemento (C5a, C3a, C4a)	Plasma (producido en el hígado)	Quimiotaxis y activación de los leucocitos, vasodilatación (estimulación de los mastocitos)
Cininas	Plasma (producido en el hígado)	Aumento de la permeabilidad vascular, contracción del músculo liso, vasodilatación, dolor.
Proteasas activadas durante la coagulación	Plasma (producido en el hígado)	Activación endotelial, reclutamiento de leucocitos.

2.4. Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la inflamación

Un estímulo inflamatorio conduce al reclutamiento y la activación de diversas células inmunes (incluyendo macrófagos, neutrófilos y células dendríticas), que

liberan una acumulación de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno. Especies reactivas del oxígeno y especies reactivas de nitrógeno (colectivamente RONS) son radicales altamente reactivos que contienen electrones no apareados capa de valencia. Estos radicales tienen un papel importante en la actividad microbicida de la respuesta inmune innata. En respuesta a un estímulo, las células fagocíticas liberan RONS y células no fagocíticas son estimuladas para producir RONS por las citoquinas pro-inflamatorias. La regulación apropiada de RONS es vital para una respuesta inmune eficiente y para limitar el daño tisular. La inflamación crónica provoca que los niveles elevados de RONS sean sostenidas durante periodos prolongados de tiempo. El papel de RONS en la carcinogénesis es complejo. Dependiendo de la concentración de estos radicales libres y del contexto celular en el que se expresan, pueden ser protumorigénico o antitumorigénico. La mayoría de los tipos de cáncer se percibe un incremento de RONS, creando aumento de estrés oxidativo y nitrosativo, que se cree que contribuyen a la carcinogénesis. El aumento de RONS conduce a roturas de hebras de ADN, mutaciones puntuales y aberrantes del ADN, causando con ello la inestabilidad genómica. Esto contribuye a la carcinogénesis mediante la mutación de los proto-oncogenes y genes supresores de tumores, lo cual ha sido demostrado en modelos animales. RONS puede causar la peroxidación de lípidos que genera otras moléculas reactivas, tales como malondialdehído y 4-hidroxinonenal, que pueden formar aductos de ADN que, si no son reparados adecuadamente, pueden conducir a mutaciones puntuales en los genes supresores de tumores. Estas moléculas reactivas también pueden generar estímulos inflamatorios para propagar el efecto.¹⁴

2.5. Radicales libres

Un radical libre es cualquier molécula que contiene uno o más electrones no apareados.¹⁵

Los radicales libres pueden formarse a partir de sustancias endógenas y exógenas. Ellos se están formando continuamente en la célula y en el medio ambiente. Diferentes fuentes de radicales libres son las siguientes:

- Radiaciones UV, rayos X, rayos gamma y la radiación de microondas.
- Reacciones catalizadas por metales.
- Radicales libres de oxígeno en la atmósfera considerados como contaminantes.

- La inflamación inicia los neutrófilos y los macrófagos para producir ROS y RNS.
- Los neutrófilos estimulados por la exposición a microbios.
- En las reacciones de transporte de electrones mitocondriales, los radicales libres de oxígeno son producidos como producto.
- ROS forma a partir de varias fuentes como la citocromo oxidasa mitocondrial, la xantina oxidasa, neutrófilos y por la peroxidación lipídica.
- ROS generados por el metabolismo del ácido araquidónico, plaquetas, macrófagos y células musculares lisas.
- La interacción con los productos químicos, humo, fumar cigarrillos.⁴

2.6. Radicales libres y patologías asociadas

Los radicales libres derivados del oxígeno han sido implicados en la patogénesis de muchas enfermedades humanas incluyendo enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, pérdida de memoria y depresión. Enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, la enfermedad isquémica del corazón, hipertrofia cardiaca, hipertensión, shock y trauma. Trastornos pulmonares inflamatorios como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Enfermedades asociadas con bebés prematuros, incluyendo las broncopulmonares, displasia, leucomalacia periventricular, hemorragia intraventricular, retinopatía del prematuro y enterocolitis necrotizante. Enfermedad autoinmune como la artritis reumatoide. Trastornos renales como la glomerulonefritis y nefritis tubulointersticial, insuficiencia renal crónica, proteinuria, uremia. Enfermedades gastrointestinales como úlcera péptica, enfermedad inflamatoria intestinal y colitis. Tumores y cáncer como el de pulmón, leucemia, mama, ovario, y cáncer de recto. Enfermedades oculares como cataratas y relacionadas con la edad como maculopatía. Proceso de envejecimiento, diabetes, lesiones cutáneas, inmunodepresión, enfermedad hepática, pancreatitis, SIDA e infertilidad.⁴

2.7. Estrés oxidativo y antioxidantes

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas

del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.²

El sistema antioxidante endógeno protege a los tejidos de los efectos de los radicales libres. Los antioxidantes se clasifican en primarios, secundarios y terciarios, en dependencia de su función. En el primer grupo, se encuentran los enzimáticos, entre los que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX) y proteínas de unión a metales (GR). En el segundo grupo de antioxidantes están antioxidantes hidrofílicos como la vitamina C, (ascorbato), ácido úrico, bilirrubina y albúmina. Los antioxidantes lipofílicos son la vitamina E (alfatocoferol), carotenoides y las ubiquinonas.¹⁵

2.8. Analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos

Se trata de un conjunto de fármacos analgésicos que, aun con matizaciones, presenta claras diferencias en relación con el otro gran grupo de analgésicos, los opioides. El fármaco prototipo es el ácido acetilsalicílico (AAS), aunque en la actualidad se dispone de numerosos fármacos que, aunque pertenezcan a diferentes familias químicas, se agrupan bajo el término AINE (Tabla 2). Aunque la mayoría de los componentes de este grupo comparten las tres acciones que lo definen (analgésica, antitérmica y antiinflamatoria), su eficacia relativa para cada una de ellas puede ser diferente; es decir, un fármaco concreto puede mostrar mayor actividad antiinflamatoria o analgésica que otro, o viceversa. Asimismo, su toxicidad puede coincidir con la del grupo o ser más o menos específica. De ahí que su utilización clínica dependa tanto de su eficacia como de su toxicidad relativa. Los principales efectos terapéuticos, así como muchas de las reacciones adversas de los AINE pueden explicarse por su efecto inhibitorio de la actividad de las ciclooxigenasas, COX (Figura 3), enzimas que convierten el ácido araquidónico que se encuentra en las membranas celulares en endoperóxidos cíclicos inestables, que se transforman en prostaglandinas (PG) y tromboxanos. Algunos de estos eicosanoides participan, en grado diverso, en los mecanismos patogénicos de la inflamación, el dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por los AINE sería responsable de su actividad terapéutica, aunque, dada su participación en determinados procesos

fisiológicos, dicha inhibición sería también responsable de diversas reacciones adversas características de estos fármacos.¹⁶

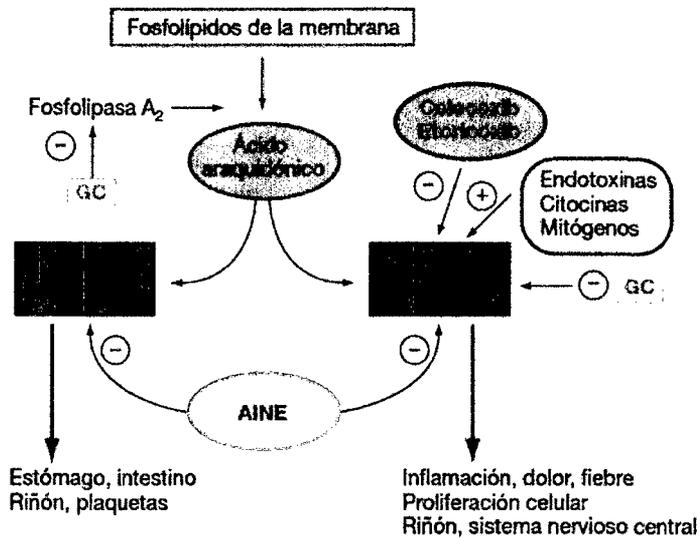


Figura 3. Representación esquemática de la acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), glucocorticoides (GC) e inductores de la expresión sobre la COX-1 y COX-2.¹⁶

2.9. Diclofenaco

Son derivados fenilacéticos de amplio uso en nuestro país (especialmente, el diclofenaco), con actividad analgésica, antitérmica y antiinflamatoria potente, y eficacia comparable a la de los derivados del ácido propiónico.

El diclofenaco, a las dosis habituales, interfiere menos en la agregación plaquetaria que la mayoría de los AINE y es uricosúrico. Como el resto de AINE, inhibe la síntesis de PG, pero además disminuye la concentración de ácido araquidónico en leucocitos.¹⁶

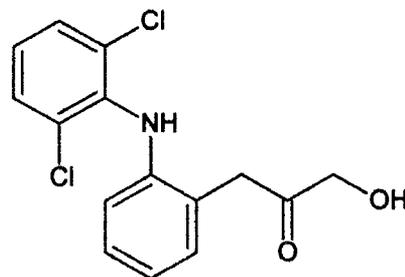


Figura 4. Estructura molecular del diclofenaco.¹⁶

Tabla 2. Principales grupos de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).¹⁶

Grupo farmacológico	Fármaco prototipo
Ácidos	
Acético	
Fenilacético	diclofenaco
Indolacético	indometacina
Pirrilacético	ketorolaco
Antranílico	ácido mefenámico
Enólicos	
Oxicams	piroxicam, meloxicam
Pirazolidindionas	fenilbutazona
Pirazolonas	matamizol
Nicotínico	clonixina
Propiónico	ibuprofeno, naproxeno
Salicílico	ácido acetilsalicílico
No ácidos	
paraaminofenoles	paracetamol
Inhibidores de la COX-2	
Metilsulfoniletilo	etoricoxib
Sulfonamida	celecoxib
Sulfonilpropanamida	parecoxib

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Región Ayacucho a una altitud de 2746 msnm, Perú.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría" que crece en el distrito de Huancayo, provincia de Huancayo, Región Junín.

3.2.2. Muestra

Dos kilogramos de flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

3.3. Animales de experimentación

Ratas cepa *Wistar* con pesos de 190 +/- 20 g, que fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos, Lima.

3.4. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.4.1. Recolección de la muestra

Se seleccionó las flores intactas, se lavó con abundante agua y se secó a la sombra, en una habitación ventilada, sobre papel periódico, aproximadamente por una semana, según lo establecido por Villar del Fresno.¹⁷

3.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

400g de flores secas de *Tanacetum parthenium* "santa maría" fueron molidas en un mortero de porcelana y luego se extrajo por maceración durante siete días con etanol de 80°. Se filtró con papel Whatman N° 40 y la solución hidroalcohólica se concentró a presión y temperatura reducida en un rotavapor y finalmente hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50°C.

3.4.3. Elaboración de los ungüentos

Se incorporó 1, 2 y 3 g de extracto al ungüento base csp 100 g. La fórmula para

el ungüento base se preparó según lo propuesto por Swinyard y Lowental.¹⁸

3.4.4. Ensayo fitoquímico cualitativo

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto alcohólico se realizaron siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.¹⁹

3.4.5. Actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, DPPH

Uno de los métodos para determinar la actividad antioxidante es aquel que emplea al radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), que por su estabilidad es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.²⁰ El procedimiento fue el que se detalla a continuación:

1. Se preparó una solución metanólica de DPPH de 20 mg/L.
2. Se preparó una solución metanólica del extracto a una concentración de 300 µg/mL (solución A).
3. Se calibró el espectrofotómetro a cero con una solución blanco de metanol: agua (2:1).
4. Se preparó un blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (solución A) más 1,5 mL de metanol.
5. Se preparó un patrón de referencia con 1,5 mL de DPPH más 0.75 mL de agua destilada.
6. La muestra, con 0,75 mL de solución A y 1,5 mL de DPPH obteniéndose una solución final de 100 µg/mL.
7. Inmediatamente se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro.
8. Se diluyó la solución A (2) con metanol en una proporción de 1:1 para obtener una solución final de 50 µg/mL (solución B) y luego en una proporción de 1:9, para obtener una concentración final de 10 µg/mL (solución C).
9. Con la solución B y C se procedió igual que en el paso 7.

Para la comparación, el estándar Vitamina C, se preparó siguiendo el mismo procedimiento que conlleva a lograr concentraciones de 100, 50 y 10 µg/mL.

Para los cálculos del porcentaje de actividad antioxidante se empleó la siguiente fórmula:

$$\%AA = 100 - \frac{(A_m - A_b)}{A_c} \times 100$$

Donde:

Ac: Absorbancia del DPPH

Am: Absorbancia de la muestra

Ab: Absorbancia del blanco de la muestra

%AA: Porcentaje de actividad antioxidante.

3.4.6. Diseño experimental

El diseño fue con pre y post prueba y grupo control donde se incorporó la medición inicial a todos los grupos (preprueba), de esta manera se evaluó la alegorización de las unidades experimentales utilizadas (se midió el volumen inicial de la pata) y en la etapa postprueba (medición del volumen de la pata inflamada), paralelamente se realizó el análisis a un grupo blanco y otro grupo control. Este diseño puede ser extendido a más de dos grupos como en el caso de esta investigación.²¹ El diseño se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

Grupo	Ungüento base	Diclofenaco 1%	Ungüento con extracto 1%	Ungüento con extracto 2%	Ungüento con extracto 3%
I	X				
II		X			
III			X		
IV				X	
V					X

3.4.7. Actividad antiinflamatoria

8.1. Edema plantar inducido por carragenina en ratas.

Se seguirá la técnica propuesta por Chiclana y *et al.*²²

- Los animales estuvieron en ayunas 12 horas antes del experimento.
- Se midió los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas utilizando un pletismómetro manual de agua.
- Las ratas fueron separadas en 5 grupos de 5 ratas cada uno.
- El grupo I, control, recibió ungüento base hidrosoluble sin ningún principio activo. Al grupo II se le administró diclofenaco gel al 1%, mientras que los grupos III, IV y V recibieron los ungüentos preparados con el extracto de *Tanacetum parthenium* al 1, 2 y 3%, respectivamente.

- El edema se indució por inyección subplantar de 0,1 ml de suspensión de carragenina al 1% p/v, en la pata derecha posterior de cada rata.
- El volumen de la pata se midió antes de la inyección (0 h) y cada hora, durante 4 h, luego de la inyección de carragenina, para lo cual se utilizó un pletismógrafo de agua, registrándose los volúmenes desplazados por la extremidad del animal.
- Los ungüentos fueron aplicadas inmediatamente luego de la inyección, y cubiertas con una gasa a fin de evitar pérdidas de ungüento por roce o por la propia limpieza del animal.
- Para realizar las mediciones el ungüento se removió y reaplicó luego de cada medición.
- Por diferencia de volúmenes de la pata medida antes de la producción de la inflamación y a los tiempos de 1, 2, 3 y 4 horas se calculó el porcentaje de inflamación producido para cada rata con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100$$

Donde:

V_t : volumen de la pata inflamada en un tiempo x

V_o : volumen normal

4. Análisis estadístico

La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) de las áreas bajo la curva (ABC) con un nivel de significancia estadística de 95%. Las comparaciones frente al estándar se hicieron con la Prueba de Dunnett, y entre los extractos, con la prueba de Duncan, haciendo uso del programa SPSS versión 21.

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Ensayos químicos cualitativos del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

Metabolito	Ensayo	Resultado	Observación
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	++	Coloración azul intenso
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amflica de color rojo intenso
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+++	Precipitado rojo
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	+++	Coloración verde oscura
Aminoácidos	Ninhidrina	+	Coloración violeta

(+): Escaso (++) : Regular (+++) : Abundante

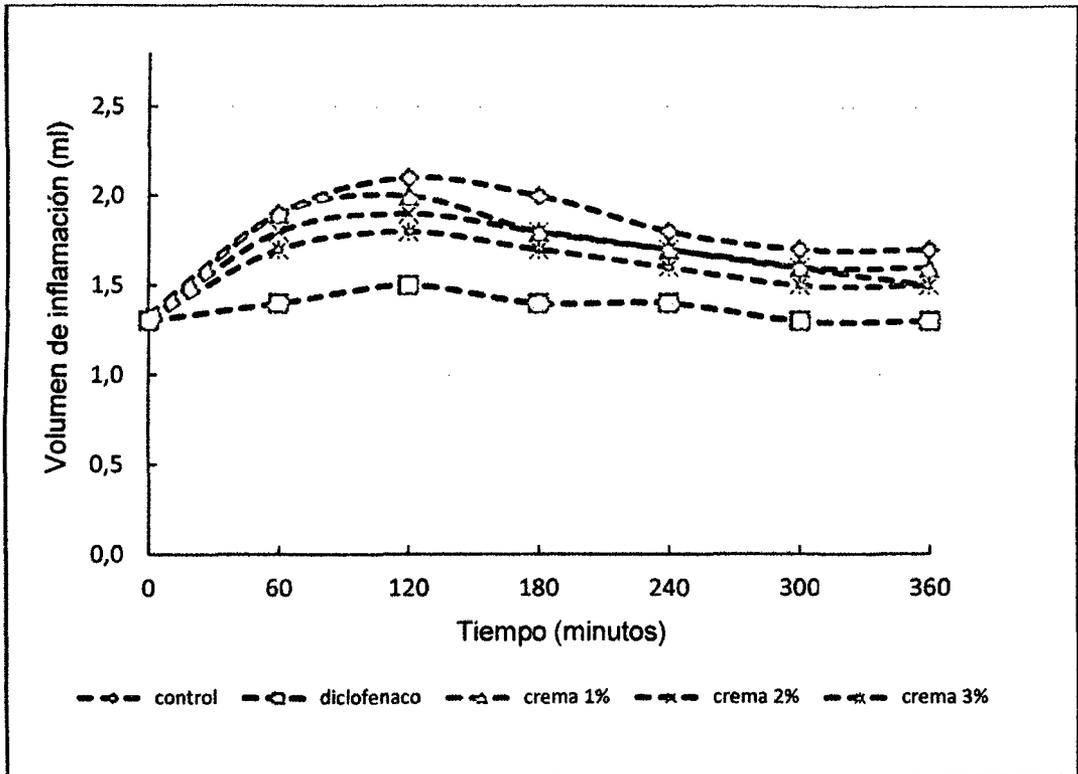


Figura 5. Variación del volumen de inflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

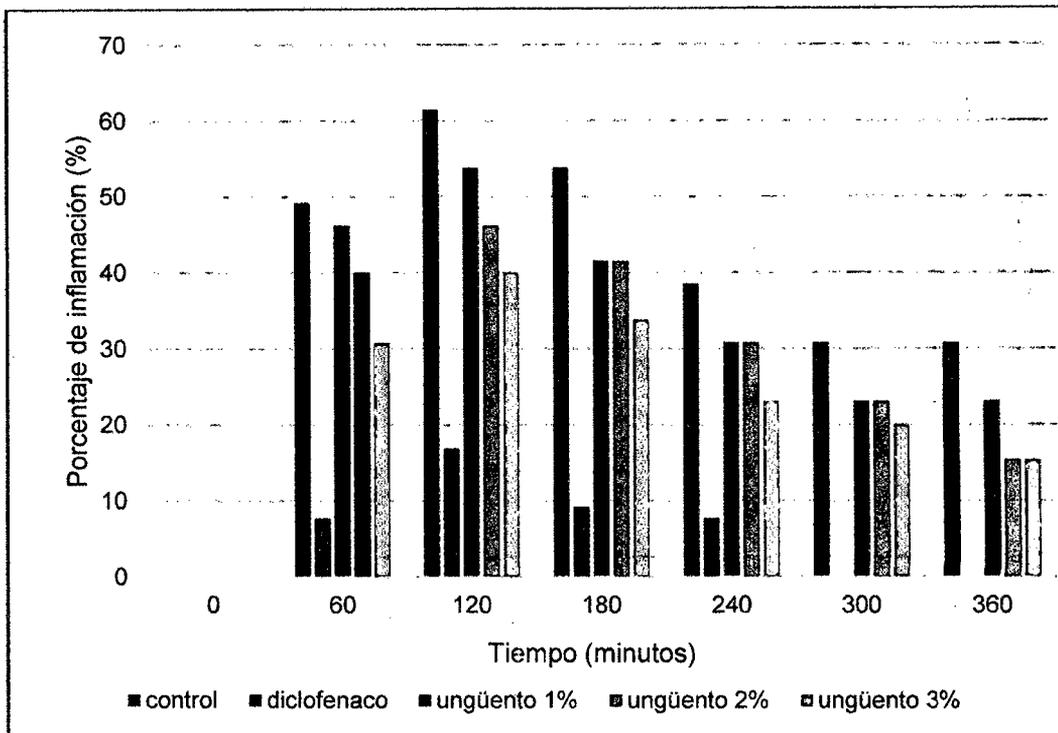


Figura 6. Variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maria". Ayacucho, 2014.

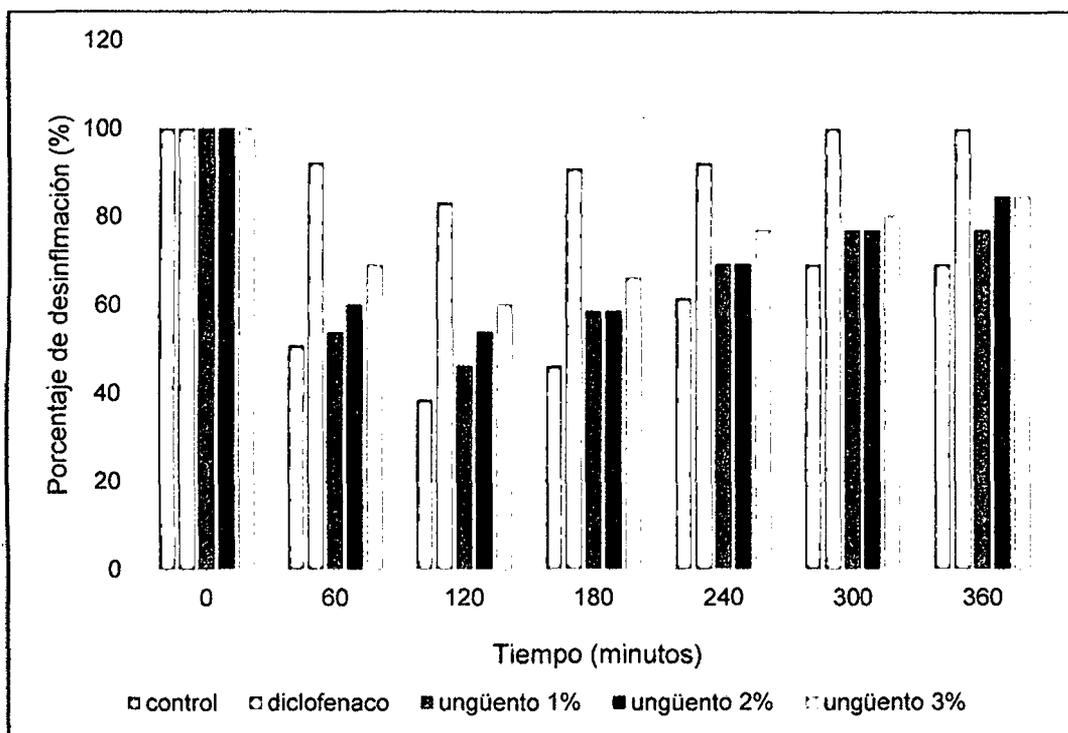


Figura 7. Variación del porcentaje de desinflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

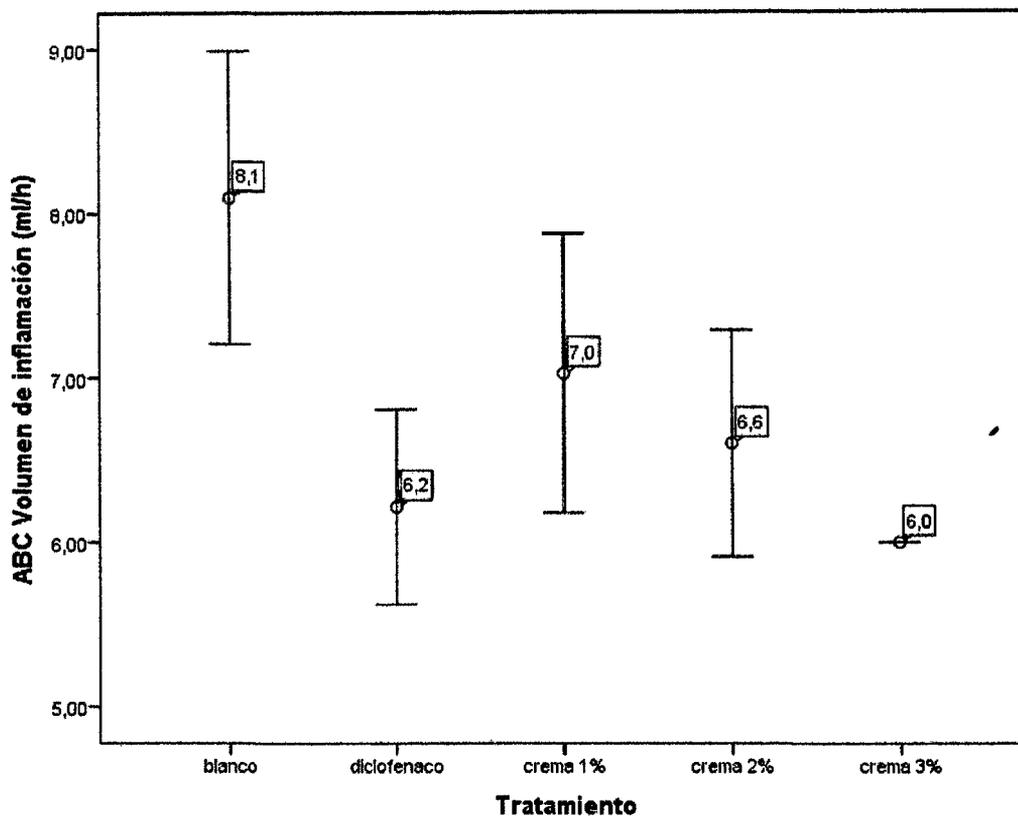


Figura 8. Área bajo la curva (ABC) del volumen de inflamación a través del tiempo según tratamiento con diclofenaco y extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

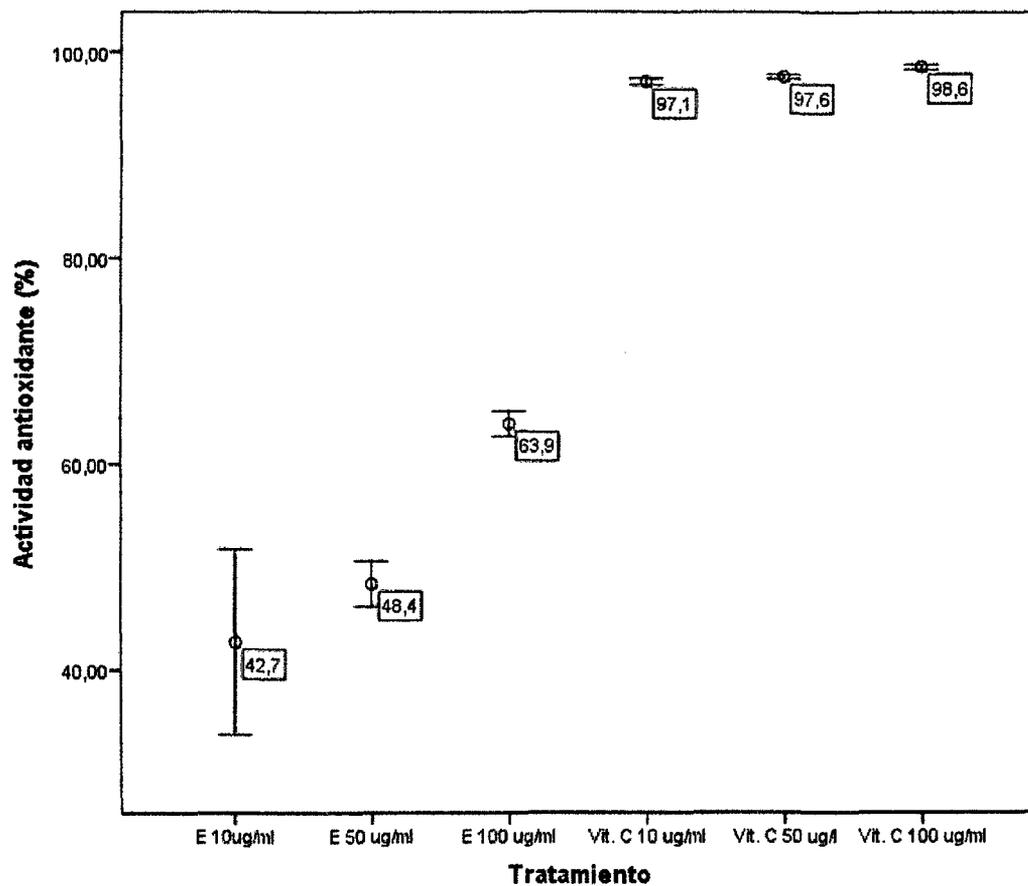


Figura 9. Porcentaje de actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y vitamina C. Ayacucho, 2014.

V. DISCUSIÓN

Asteraceae es la familia más grande de plantas; sus numerosos géneros y especies, de distribución mundial, y el hecho de que comprende muchas plantas útiles la han convertido en objeto de numerosos estudios. *Tanacetum* es uno de los géneros más importantes.¹² *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" (Anexo 2) es una planta de amplio uso medicinal en diversas culturas del mundo de forma empírica o tradicional.

La extracción de principios activos con disolventes consiste en poner en contacto a la droga con un disolvente capaz de solubilizar los metabolitos secundarios, y estos deben pasar de la droga al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. Posteriormente dicho extracto se puede concentrar eliminando la mayor cantidad de solvente.²³ En la extracción de los metabolitos secundarios se emplean extractos hidroalcohólicos porque son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga.¹⁹

La Tabla 4, muestra las pruebas de identificación cualitativa de metabolitos secundarios realizadas al extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". La característica más saltante, en concordancia con lo referido en la literatura, es la presencia de lactonas sesquiterpénicas, un grupo de metabolitos característico de las compuestas.²³

El edema plantar inducido por carragenina es una técnica estándar de inflamación aguda, donde la carragenina es el agente inductor elegido para ensayar agentes antiinflamatorios, además de ser antigénico; por lo que exhibe un alto grado de reproducibilidad.²⁴

La inflamación inducida ha sido del tipo agudo, con formación de exudado, rico en proteínas plasmáticas, donde intervienen fundamentalmente los leucocitos polimorfonucleares como células antiinflamatorias después de dos horas de inyectado el agente así como también mediadores inmediatos (una hora después de la administración) como la histamina y serotonina. Aproximadamente una hora y media a dos horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por prostaglandinas, fundamentalmente PGE₁, PGE₂ y PGF₂. La respuesta vascular

máxima ocurre cuatro horas después de la administración, que coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. Se prefiere trabajar con carragenina antes que con otros agentes irritantes porque el edema que produce está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y, además, porque la actividad antiinflamatoria de este test guarda correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica.²⁵

En la Figura 5, se muestra el progreso de la actividad antiinflamatoria de los extractos y del estándar a través del tiempo. Es evidente la eficacia del fármaco de referencia diclofenaco, cuya actividad tópica, a raíz de estudios comparativos, es tan eficaz como el diclofenaco oral.²⁶

La Figura 8, muestra la distribución de los porcentajes de actividad antiinflamatoria obtenidos. Si bien los volúmenes de inflamación obtenidos en este trabajo difieren ligeramente de los obtenidos en otros trabajos similares, la actividad antiinflamatoria se puede percibir en vista de que los extractos exhiben comportamientos diferentes de manera concentración dependiente.

Calculando el área bajo la curva (ABC ml/min) de cada curva descrita por los tratamientos (Anexo 5), observamos que las áreas son, para el grupo blanco 8,100 ml/min², extracto 3% 6,214 ml/min², extracto 2% 6,600 ml/min², extracto 1% 7,028 ml/min², y diclofenaco 6,000 ml/min².

Luego de realizar la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett (Anexo 8) de las áreas bajo la curva, se comprobó que los extractos al 2 y 3 %, son similares estadísticamente con el diclofenaco. La prueba de Duncan (Anexo 9) también ratifica lo anterior.

A todas luces, con estos resultados se demuestra una vez más que las flores de *Tanacetum parthenium* tiene efecto antiinflamatorio tópico, que además podría guardar relación con otros ensayos clínicos controlados realizados que dan cuenta de que tiene actividad antiinflamatoria significativa.²⁷

Podríamos atribuir el efecto antiinflamatorio observado a la presencia de compuestos fenólicos aunque la reacción de coloración positiva para estos haya sido tenue. En la actualidad se opina más globalmente que estos fenoles captan los radicales formados en diversas circunstancias: anoxia (ausencia de oxígeno), inflamación y autoxidación lipídica.²⁸

La actividad antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona en parte con las enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico. En el mecanismo antioxidante sobre la peroxidación lipídica de la quercetina

precisamente está involucrada la vía del ácido araquidónico lo cual implica una actividad antiinflamatoria paralela. En general los flavonoides polihidroxilados actúan por la vía de la enzima 5- lipooxigenasa, en tanto los menos hidroxilados lo hacen por la vía de la ciclo-oxigenasa. En cambio, *in vivo* pueden comportarse como inhibidores duales debido probablemente a la biotransformación que sufren en el organismo.²⁹

Sin embargo, resulta más interesante, dado los antecedentes de estudio químico y farmacológicos, que el efecto antiinflamatorio pueda deberse a un metabolito característico presente en esta especie, el partenólido (Figura 1) . En efecto, trabajos previos hacen referencia que esta lactona sesquiterpénica abundante, entre otras especies, en *Tanacetum parthenium* parece inhibir la señalización proinflamatoria vía diana molecular directa de partenólido. Se ha esclarecido, además, los mecanismos por los cuales actúa esta molécula. Se ha demostrado que se unen directamente e inhibe la quinasa L que juega un papel crítico en la señalización mediada por citoquinas. Por otra parte, se ha puesto de manifiesto que la actividad anti-inflamatoria *in vitro* e *in vivo* del partenólido está mediada a través del resto lactona metileno compartida por otras lactonas sesquiterpénicas. También posee un resto epóxido, que es un segundo sitio para el potencial de ataque nucleofílico por una cadena lateral de aminoácido.³⁰

Las lactonas sesquiterpénicas son los constituyentes activos de muchas plantas medicinales de la familia Asteraceae. Preparados de estas plantas se utilizan en la medicina tradicional en el tratamiento de varios desordenes inflamatorios. *Tanacetum parthenium* es una de estas tantas plantas medicinales, cuyo metabolito secundario principal es el partenólido. La actividad antiinflamatoria de los extractos de plantas, así como las lactonas sesquiterpénicas que los componen, ha sido corroborada utilizando diferentes ensayos. Varios estudios han establecido que una de las principales dianas moleculares inhibidas por las lactonas sesquiterpénicas son factores de transcripción como NF-κB. Estos factores de transcripción desempeñan un papel central en el control de la expresión de genes proinflamatorios e inmunes. Estudios sobre el mecanismo molecular de la actividad anti-inflamatoria de las lactonas sesquiterpénicas se ha enfocado en el factor de transcripción NF-κB. La observación de que las lactonas sesquiterpénicas inhiben directamente la ligación al ADN de NF-κB enfatiza su potencial como un compuesto modelo para el diseño de nuevas drogas anti-inflamatorias.^{5,6}

Es posible que la naturaleza lipofílica del partenólido favorezca la actividad a nivel dérmico. Así, *Tanacetum vulgare*, un congénere cuyas partes aéreas después de ser tratadas con diclorometano y metanol y la aplicación de técnicas cromatográficas convencionales de columna y de capa fina, fue posible aislar de las fracciones moderadamente lipofílicas principios responsables de la actividad antiinflamatoria de esta planta contra edema inducido en oreja de ratón.³¹

Sin embargo, el tipo de extracción empleado en este trabajo no amerita la presencia de sustancias lipofílicas cuantitativamente importantes, por lo que cabe la posibilidad de que la presencia de algunos compuestos fenólicos sean los involucrados principalmente en el proceso antiinflamatorio. Se ha encontrado la presencia de un flavonol en hojas, flores y semillas de *Tanacetum parthenium*. Pruebas farmacológicas indican que tanetina (6-hidroxikamferol 3,7,4'-trimetil éter) podría contribuir a las propiedades antiinflamatorias de la "santa maría" mediante la inhibición de la generación de proinflamatorios eicosanoides, aunque es poco probable que sea el único compuesto biológicamente activo dentro de la planta.³²

Se sabe que los procesos inflamatorios y de daño celular cursan con producción de radicales libres por lo que cualquier actividad que haga frente a estos radicales libres estaría contribuyendo a inhibir el proceso inflamatorio. La actividad antioxidante evaluada en este estudio no es significativa, al menos *in vitro*. En la Figura 9, se muestra la distribución del porcentaje de actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y vitamina C. La actividad captadora de los compuestos de prueba y el estándar se expresó en términos de la concentración necesaria para disminuir la absorción inicial de DPPH en 50% (IC₅₀). Es notoria la potente actividad secuestradora de radicales libres (DPPH) que se logró con la Vitamina C, cuya naturaleza química y perfil antioxidante son conocidos ampliamente. Los extractos en cambio, exhibieron muy baja actividad antioxidante, lográndose un 63,9% de actividad a una concentración del 3%. En este sentido resulta muy poco relevante poder relacionar la actividad antioxidante de las flores de *Tanacetum parthenium* L. con su actividad antiinflamatoria.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" tiene actividad antiinflamatoria *in vivo* y antioxidante *in vitro*.
2. El extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" contiene fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos.
3. La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antiinflamatoria fue la de 3%, con un ABC de 6,214 ml/t², estadísticamente similar al estándar diclofenaco, con 6,00 ml/t².
4. La concentración del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antioxidante fue la de 100 µg/ml, con un porcentaje de 63,9% de actividad antiradicalaria.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar, identificar, cuantificar y elucidar los principios activos del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" responsables del efecto antiinflamatorio y antioxidante.
2. Realizar extracciones lipofílicas de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y evaluar su actividad antiinflamatoria.
3. Desarrollar formas farmacéuticas de administración dérmica con el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y realizar estudios de sus posibles efectos adversos locales.
4. Realizar estudios de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" ya que la literatura hace referencia de su actividad en la estimulación de la producción de nuevas plaquetas en pacientes con trombocitopenia.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews*. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 70(5):257-265. Disponible en: <http://nutritionreviews.oxfordjournals.org/content/70/5/257.abstract>
2. Venereo G. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 31(2):126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
3. Pascual S, Árbol F, Sánchez E, Casadevall C, Merlo V, Gea J, Barreiro E. Inflamación y estrés oxidativo en los músculos respiratorios y periféricos de pacientes con sepsis grave. *Medicina Clínica*. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 141(5):194-200. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775312005647>
4. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*. [revista en la Internet]. 2010 [citado 2015 Sep 26]; 3(1):91-100. Disponible en: <http://www.global-research-online.net/journalcontents/volume3issue1/Article%202021.pdf>
5. Bremner P, Heinrich M. Natural products and their role as inhibitors of the pro-inflammatory transcription factor NF- κ B. *Phytochemistry Reviews*. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 4(1):27-37. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11101-004-6000-6>
6. Mathema VB, Koh YS., Thakuri BC, Sillanpää M. Parthenolide, a sesquiterpene lactone, expresses multiple anti-cancer and anti-inflammatory activities. *Inflammation*. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 35(2):560-565. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10753-011-9346-0>
7. Williams CA, Hoult JRS, Harborne JB, Greenham J, Eagles J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*. [revista en la Internet] 1995 [citado 2015 Sep 26]; 38(1):267-270. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229400609W>
8. TRAMIL. Programa de Investigación Aplicada a la Medicina Tradicional Popular del Caribe. Farmacopea caribeña. República Dominicana: Ediciones Emile Désormeaux; 1997.
9. Pareek A, Suthar M, Rathore G, Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip.): A systematic review. *Pharmacogn Rev*. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 5(9):103-10, Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210009/>
10. Williams CA, Harborne JB, Geiger H, Hoult JRS. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry*. [revista en la Internet]. 1999 [citado 2015 Sep 26]; 51(3):417-423. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942299000217>
11. Banthorpe DV, Brown GD, Janes JF, Marr IM. Parthenolide and other volatiles in the flowerheads of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. *Flavour and Fragrance Journal*; [revista en la Internet]. 1990 [citado 2015 Sep 26]; 5(3):183-185. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.2730050310/full>
12. Mohsenzadeh F, Chehregani A, Amiri H. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different

- developmental stages. *Pharmaceutical biology*. [revista en la Internet]. 2011 [citado 2015 Sep 26]; 49(9):920-926. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/13880209.2011.556650>
13. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Inflamación aguda y crónica. En Robins, *Patología estructural y funcional*. 8ª Edición. Barcelona: Elsevier; 2010. p 43-78.
 14. Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis*. [revista en la Internet]. 2010 [citado 2015 Sep 26]; 31(1):37-49. Disponible en: <http://carcin.oxfordjournals.org/content/31/1/37.short>
 15. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular*. [revista en la Internet]. 2014 [citado 2015 Sep 26]; 14(1). Disponible en: <http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/471>
 16. Flórez J. *Farmacología Humana*. 3ª edición. Barcelona: Editorial Masson; 1997.
 17. Villar del Fresno A. *Farmacognosia General*. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
 18. Swinyard E, Lowenthal W. *Necesidades farmacéuticas*. En Remington *Farmacología*. 17ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1987. p. 1733-1789
 19. Miranda M, Cuellar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales*. Universidad La Habana: Universidad de La Habana; 2000.
 20. Aguilar E. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smilax szechuanensis* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante y antirradicalaria. [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
 21. Hernández S, Fernández C, Baptista L. *Metodología de la investigación*. 4ª Edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2006
 22. Chiclana CF, Enrique A, Consolini AE. Actividad antiinflamatoria local de *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) en el edema inducido por carragenina en ratas. *Lat. Am. J. Pharm.* [revista en la Internet]. 2009 [citado 2015 Sep 26]; 28(2):275-8. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/2/LAJOP_28_2_2_1_20617WK8JH.pdf
 23. Kuklinski C. *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Editorial Omega S.A.; 2003.
 24. Zaa C, Valdivia M, Marcelo Á. Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria alliacea*. *Revista Peruana de Biología*. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 19(3):329-334. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332012000300015&script=sci_arttext&tlng=pt
 25. Gonzales A, Palacios A. Estudio farmacognóstico y actividad antiinflamatoria del fruto *Averrhoa carambola* L. [Tesis Doctoral] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2003. Disponible en: URL: http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2003/gonzales_sw/pdf/gonzales_sw.pdf
 26. Rodríguez Alcalá Francisco Javier. Evidencias para el uso de antiinflamatorios no esteroideos tópicos. *Rev Clin Med Fam* [revista en la Internet] 2013 [citado 2015 Sep 26]; 6(3):152-159. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699695X2013000300006&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S1699-695X2013000300006>.

27. Sur R, Martin K, Liebel F, Lyte P, Shapiro S, Southall M. Anti-inflammatory activity of parthenolide-depleted Feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Inflammopharmacology* [revista en la Internet]. 2009 [citado 2015 Sep 26]. 17(1):42-49. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10787-008-8040-9>
28. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 2a ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2001.
29. Ballester I. Relación estructura–actividad de los flavonoides como agentes antiinflamatorios intestinales. [Tesis Doctoral] España: Universidad de Granada. 2006 (Acceso, 08 de febrero del 2011). Disponible en: URL: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/1079/1/16236208.pdf>
30. Kwok BH, Koh B, Ndubuisi MI, Eloffson M, Crews CM. The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb feverfew directly binds to and inhibits I κ B kinase. *Chem Biol* [revista en la Internet]. 2001 [citado 2015 Sep 26]; 8:759-66. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552101000497>
31. Schinella GR, Giner RM, Recio MDC, Buschiazzo P, Ríos JL, M \acute{a} ñez S. Anti-inflammatory Effects of South American *Tanacetum vulgare*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. [revista en la Internet]. 1998 [citado 2015 Sep 26]; 50(9):1069-1074. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-7158.1998.tb06924.x/full>
32. Williams CA, Hoult JRS, Harborne JB, Greenham J, Eagles J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*. [revista en la Internet] 1998 [citado 2015 Sep 26]; 1995; 38(1):267-270. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229400609W>

ANEXO

Anexo 1
Certificado de clasificación botánica de *Tanacetum parthenium*.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Franco Junior, HUAYANAY PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Tanacetum
ESPECIE	:	<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch.Bip.
N.V.	:	"santa marla"

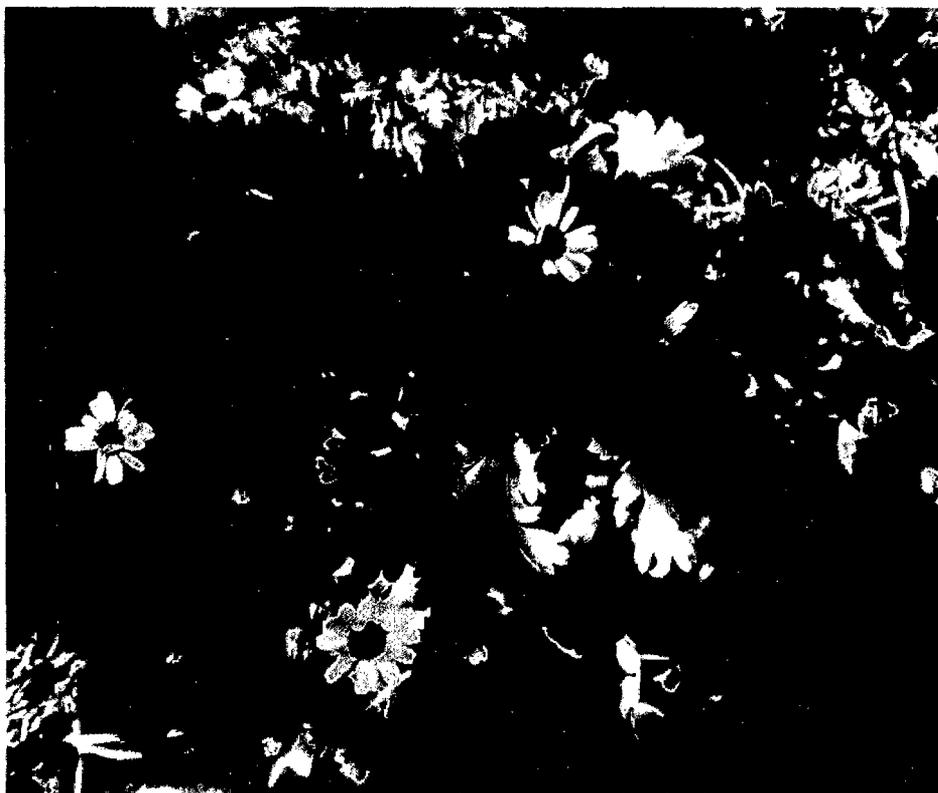
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del Interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 15 de Agosto del 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

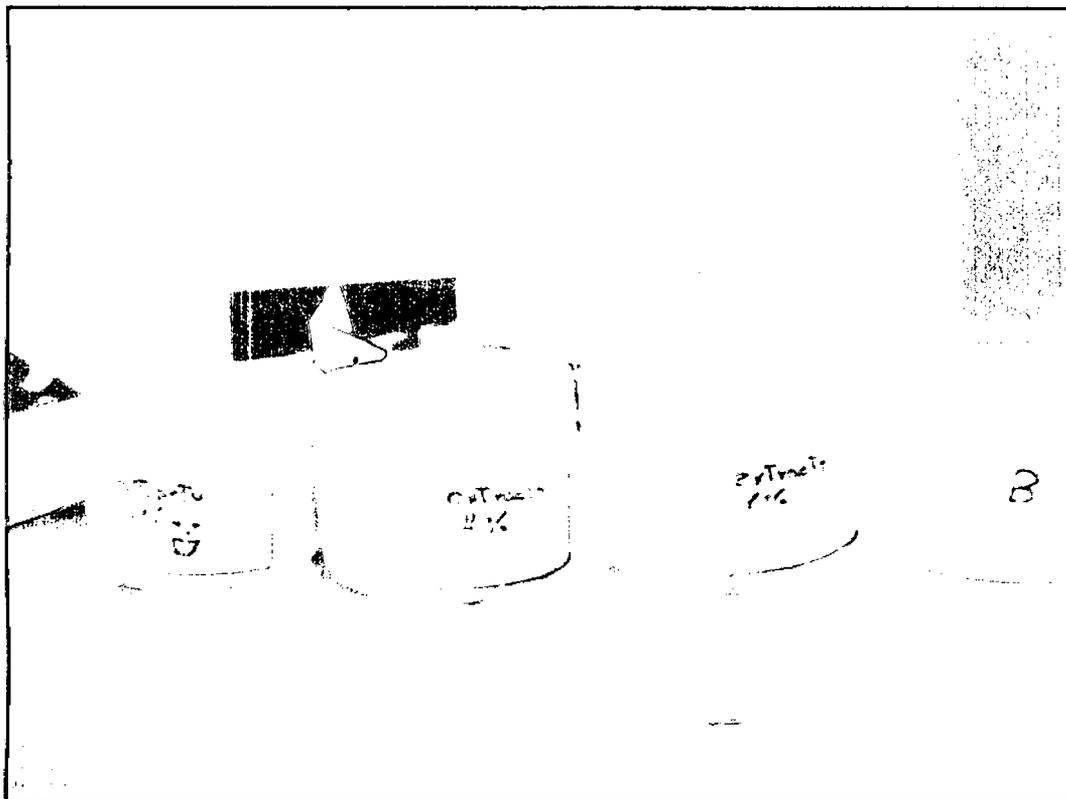
Dña. Laura Aucallano Medina
JEFE

Anexo 2
Tanacetum parthenium en su hábitat natural.



Anexo 3

Ungüentos base a diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maria".



Anexo 4
Medición pletismométrica de la pata inflamada de rata.



Anexo 5

Volúmenes de inflamación en mililitros y áreas bajo la curva en la determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

Repetición	Tiempo (min)							ABC
	0	60	120	180	240	300	360	
Blanco								
1	1,4	1,8	2,2	2,0	1,8	1,7	1,7	8,214
2	1,2	2,0	2,0	2,0	1,9	1,8	1,7	9,071
3	1,4	2,0	2,1	1,9	1,7	1,6	1,7	7,929
4	1,2	1,9	2,0	1,9	1,9	1,7	1,7	7,071
5	1,3	1,8	2,2	2,2	1,7	1,7	1,7	8,214
8,100								
3%								
1	1,4	1,4	1,6	1,5	1,5	1,2	1,2	6,000
2	1,2	1,5	1,5	1,3	1,4	1,4	1,4	6,000
3	1,4	1,4	1,4	1,3	1,3	1,2	1,2	6,000
4	1,2	1,4	1,5	1,4	1,4	1,4	1,4	6,000
5	1,3	1,3	1,5	1,5	1,4	1,3	1,3	7,071
6,214								
2%								
1	1,4	1,8	2	1,8	1,7	1,7	1,4	7,071
2	1,2	2,0	1,9	1,9	1,7	1,5	1,5	6,857
3	1,4	1,7	1,8	1,7	1,7	1,5	1,4	6,000
4	1,2	1,9	2	1,9	1,7	1,6	1,6	7,071
5	1,3	1,7	1,8	1,7	1,7	1,7	1,6	6,000
6,600								
1%								
1	1,4	1,9	2	1,8	1,7	1,6	1,6	7,071
2	1,2	1,8	1,9	1,9	1,6	1,5	1,5	6,000
3	1,4	1,9	2	1,7	1,7	1,5	1,5	7,070
4	1,2	2,0	2,1	1,9	1,8	1,7	1,7	7,929
5	1,3	1,8	2	1,7	1,7	1,7	1,7	7,071
7,028								
diclofenaco								
1	1,4	1,8	1,8	1,7	1,7	1,6	1,6	6,000
2	1,2	1,7	1,9	1,7	1,5	1,5	1,4	6,000
3	1,4	1,7	1,7	1,7	1,6	1,6	1,5	6,000
4	1,2	1,7	1,9	1,7	1,6	1,5	1,5	6,000
5	1,3	1,6	1,7	1,7	1,6	1,6	1,5	6,000
6,000								

Anexo 6
Porcentaje de inflamación en función del tiempo.

Tiempo (min)	blanco %inflam.	diclofenaco %inflam.	ungüento		
			1% %inflam.	2% %inflam.	3% %inflam.
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
60	49,2	7,7	46,2	40,0	30,8
120	61,5	16,9	53,8	46,2	40,0
180	53,8	9,2	41,5	41,5	33,8
240	38,5	7,7	30,8	30,8	23,1
300	30,8	0,0	23,1	23,1	20,0
360	30,8	0,0	23,1	15,4	15,4

Anexo 7

Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH, de la vitamina C y el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

Repetición	Tratamiento					
	Vitamina C			Extracto		
	100µg/ml	50µg/ml	10µg/ml	100µg/ml	50µg/ml	10µg/ml
1	98,79	97,67	96,96	60,6	48,4	49,8
2	98,58	97,70	96,96	64,2	46,9	37,8
3	98,44	97,44	97,40	62,9	50,2	38,5
4	98,60	97,60	97,11	64,7	48,0	44,8

Anexo 8

Prueba de HSD de Tukey. Subconjuntos homogéneos de las medias del porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
E 10ug/ml	4	42,7250			
E 50 ug/ml	4		48,3750		
E 100 ug/ml	4			63,8750	
Vit. C 10 ug/ml	4				97,1075
Vit. C 50 ug/l	4				97,6025
Vit. C 100 ug/ml	4				98,6025
Sig.		1,000	1,000	1,000	,947

Anexo 9

Prueba de Dunnett bilateral del porcentaje de actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

Tratamiento	Estándar	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
ungüento 1%	diclofenaco	,81400	,31707	,052	-,0080	1,6360
ungüento 2%	diclofenaco	,38560	,31707	,495	-,4364	1,2076
ungüento 3%	diclofenaco	-,21420	,31707	,839	-1,0362	,6078

Anexo 10

Prueba de Duncan. Subconjuntos homogéneos de las medias del porcentaje de actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
ungüento 3%	5	6,0000	
ungüento 2%	5	6,5998	6,5998
ungüento 1%	5		7,0282
Sig.		,087	,208

Anexo 11

Fórmula del ungüento base a partir del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría".

		Para 50 gramos			
		1%	2%	3%	Blanco
Extracto		0.5	1	1.5	0
Propilenglicol	5%	2.5	2.5	2.5	2.5
Span 20	3%	1.5	1.5	1.5	1.5
Lanolina	5%	2.5	2.5	2.5	2.5
Vaselina Líq.	5%	2.5	2.5	2.5	2.5
Vaselina sólida	csp.	40.5	40	39.5	41

Anexo 12
Matriz de consistencia

Titulo	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". Ayacucho, 2014.	¿Tendrá actividad antioxidante y antiinflamatoria el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría"?	<p>Objetivo general</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría" mediante tamizaje fitoquímico. • Determinar la concentración de mayor actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". • Determinar el porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". 	<p>Clasificación sistemática de <i>Tanacetum parthenium</i></p> <p>Descripción botánica</p> <p>Farmacobotánica</p> <p>Antecedente</p> <p>Composición química</p> <p>Usos medicinales</p> <p>Fisiopatología de la inflamación</p> <p>Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la inflamación</p> <p>Radicales libres</p> <p>Radicales libres y patologías asociadas</p> <p>Estrés oxidativo y antioxidantes</p>	El extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría" posee actividad antioxidante y antiinflamatoria.	<p>Variable independiente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentraciones de 1, 2 y 3% del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría". • Concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL. <p>Variable dependiente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Actividad antiinflamatoria • Actividad antioxidante. <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje de inflamación expresada en ml de agua. • Porcentaje de actividad antioxidante (%AA) 	<p>Tipo de investigación: Básica experimental.</p> <p>Población: Flores de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría" que crece en el distrito de Huancayo provincia de Huancayo, Región Junín.</p> <p>Muestra: 2,0 kg de flores frescas de <i>Tanacetum parthenium</i> "santa maría".</p> <p>Unidad experimental</p> <p>25 ratas cepa <i>Wistar</i> con pesos de 190 +/- 20.g, adquiridas del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos, Lima.</p> <p>Recolección y secado</p> <p>Obtención del extracto hidroalcohólico</p> <p>Elaboración de las cremas</p> <p>Tamizaje fitoquímico</p> <p>Actividad secuestradora del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, DPPH</p> <p>Diseño experimental. Pre y post prueba y grupo control donde se incorpora la medición inicial a todos los grupos.</p> <p>Edema plantar inducido por carragenina en ratas.</p> <p>Análisis estadístico. Análisis de varianza (ANOVA) de las áreas bajo la curva (ABC) con un nivel de significancia estadística de 95%. Prueba de Dunnett y prueba de Duncan haciendo uso del programa SPSS versión 21.</p>

185236

**Actividad antioxidante y antiinflamatoria
del extracto hidroalcohólico de las flores de
Tanacetum parthenium L. Sch. Bip. "santa maría".
Ayacucho, 2014.**

Bach. Huayanay Palomino, Franco Junior
EP Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

RESUMEN

El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría", empleando la técnica *in vitro* del DPPH y el modelo *in vivo* de edema plantar inducida por carragenina en ratas *Wistar*. Se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. La muestra fue recolectada en la ciudad de Huancayo, región Junín. Se ensayó concentraciones de 1, 2 y 3% en ungüentos base como vehículo semisólido usando el estándar de referencia diclofenaco gel 1%. El extracto hidroalcohólico contiene fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos. La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antiinflamatoria fue al 3%, con un porcentaje de desinflamación del 84.6% (porcentaje de inflamación de 15.4%) y con un ABC de 6,214 ml/t². La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antioxidante fue a 100 µg/ml, con un porcentaje de 63.9%. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" tiene poca actividad antioxidante *in vitro* pero buena actividad antiinflamatoria *in vivo* estadísticamente similar al diclofenaco por lo que constituyen una fuente potencial para el tratamiento antiinflamatorio tópico.

Palabras clave: Antioxidante, antiinflamatorio, *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip., "santa maría".

SUMMARY

The objective was to determine the antioxidant and anti-inflammatory activity of the alcoholic extract of the flowers of *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maria", using the technique of DPPH *in vitro* and *in vivo* model of plantar edema induced by carrageenan in *Wistar* rats. It was carried out in the laboratories of the School of Pharmacy and Biochemistry of the National University of San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Peru. The sample was collected in the city of Huancayo, Junin region. Concentrations of 1, 2 and 3% were tested in semisolid ointment base as a standard vehicle using the reference diclofenac gel 1%. The hydroalcoholic extract contains phenols and tannins, flavonoids, lactones and / or coumarins, triterpenes and / or steroids and amino acids. The concentration of alcoholic extract of the flowers of *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "Santa Maria" more anti-inflammatory activity was 3%, with a percentage of 84.6% in inflammation (swelling percentage of 15.4%) and an ABC of 6,214 ml / t². The concentration of alcoholic extract of the flowers of *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maria" with the highest antioxidant activity was 100 ug / ml, with a percentage of 63.9%. It is concluded that the alcoholic extract of the flowers of *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maria" has little antioxidant activity *in vitro* but good anti-inflammatory activity *in vivo* statistically similar to diclofenac and therefore constitute a potential source topical anti-inflammatory treatment.

Keywords: Antioxidant, anti-inflammatory, *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip., "santa maria."

INTRODUCCIÓN

Actualmente el tema de los antioxidantes ha venido adquiriendo mucha importancia en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades que cursan con procesos inflamatorios subyacentes con producción de radicales libres.

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo por medio de reacciones bioquímicas de oxidación reducción con oxígeno, que tienen lugar por el metabolismo normal de las células, por los fagocitos, en una reacción inflamatoria controlada; pero, ¿Qué pasa con las enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide? Sin duda, cada vez hay más evidencia de que las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS) a menudo pueden ayudar a modular la inflamación, lo que garantiza que no se convierta en demasiado prolongada, pero también está claro que un desbalance de éstos ocasiona daño celular o estrés oxidativo sobre diferentes macromoléculas como lípidos, proteínas y ADN.

Se ha descubierto también, entre múltiples patologías, que el estrés oxidativo y la inflamación contribuyen a la disfunción contráctil del diafragma observado en modelos animales de sepsis y endotoxemia.

Dado que la medicina herbaria es todavía el pilar de aproximadamente el 75-80% de la población mundial principalmente en los países en desarrollo, dentro de la atención primaria de la salud debido a una mejor aceptación cultural, una mejor compatibilidad con el cuerpo humano y menos efectos secundarios.

Desarrollar trabajos de investigación con plantas medicinales para demostrar sus posibles efectos terapéuticos representa un hecho que contribuye a generar conocimientos y enriquecer el acervo científico en materia de fitomedicamentos, lo que sirve para darle validez al conocimiento tradicional o empírico y abrir las puertas para más estudios en relación con el uso racional, seguridad y eficacia de esta planta.

En este contexto, nos orientamos en tal línea de investigación de tal forma que surge como producto este informe, en donde se plasman los resultados de un estudio experimental con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

Objetivos específicos

Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría" mediante tamizaje fitoquímico.

Determinar la concentración de mayor actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

Determinar el porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

MARCO TEÓRICO

Antecedentes

Se ha descrito el partenólido como uno de los primeros productos naturales modulador del factor nuclear kappa B, un factor de transcripción implicado en muchas cascadas de señalización que desempeña un papel crucial en condiciones inflamatorias agudas y crónicas.

Mathema y *et al.* estudiaron las propiedades biológicas del partenólido, una sesquiterpenlactona presente en *Tanacetum parthenium*, llegando a demostrar que este posee actividad anticancerígena excepcional y propiedades antiinflamatorias, por lo que representa un candidato importante para futuros estudios y el desarrollo de fármacos. De otro lado, pruebas farmacológicas indican que tanetina, un flavonol de *Tanacetum parthenium*, podría contribuir a sus propiedades antiinflamatorias.

Fisiopatología de la inflamación.

La inflamación es una reacción tisular compleja que consiste básicamente en respuestas de los vasos y los leucocitos. Las principales defensas corporales frente a los invasores extraños son las proteínas plasmáticas y los leucocitos circulantes, pero también los fagocitos tisulares derivados de las células circulantes. La respuesta inflamatoria coordina las reacciones de los vasos, los leucocitos y las proteínas plasmáticas orientadas a conseguir este objetivo

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la inflamación

Un estímulo inflamatorio conduce al reclutamiento y la activación de diversas células inmunes (incluyendo macrófagos, neutrófilos y células dendríticas), que liberan una acumulación de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno. Especies reactivas del oxígeno y especies reactivas de nitrógeno (colectivamente RONS) son radicales altamente reactivos que contienen electrones no apareados capa de valencia. Estos radicales tienen un papel importante en la actividad microbicida de la respuesta inmune innata. En respuesta a un estímulo, las células fagocíticas liberan RONS y células no fagocíticas son estimuladas para producir RONS por las citoquinas pro-inflamatorias.

Radicales libres

Un radical libre es cualquier molécula que contiene uno o más electrones no apareados.

Radicales libres y patologías asociadas

Los radicales libres derivados del oxígeno han sido implicados en la patogénesis de muchas enfermedades humanas incluyendo enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, pérdida de memoria y depresión. Enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, la enfermedad isquémica del corazón, hipertrofia cardíaca, hipertensión, shock y trauma. Trastornos pulmonares inflamatorios como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Enfermedades asociadas con bebés prematuros, incluyendo las broncopulmonares, displasia, leucomalacia periventricular, hemorragia intraventricular, retinopatía del prematuro y enterocolitis

necrotizante. Enfermedad autoinmune como la artritis reumatoide. Trastornos renales como la glomerulonefritis y nefritis tubulointersticial, insuficiencia renal crónica, proteinuria, uremia. Enfermedades gastrointestinales como úlcera péptica, enfermedad inflamatoria intestinal y colitis.

Tumores y cáncer como el de pulmón, leucemia, mama, ovario, y cáncer de recto. Enfermedades oculares como cataratas y relacionadas con la edad como maculopatía. Proceso de envejecimiento, diabetes, lesiones cutáneas, inmunodepresión, enfermedad hepática, pancreatitis, Sida e infertilidad.

Estrés oxidativo y antioxidantes

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.

Analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos

Se trata de un conjunto de fármacos analgésicos que, aun con matizaciones, presenta claras diferencias en relación con el otro gran grupo de analgésicos, los opioides. El fármaco prototipo es el ácido acetilsalicílico (AAS), aunque en la actualidad se dispone de numerosos fármacos que, aunque pertenezcan a diferentes familias químicas, se agrupan bajo el término AINE.

Los principales efectos terapéuticos, así como muchas de las reacciones adversas de los AINE pueden explicarse por su efecto inhibitorio de la actividad de las ciclooxigenasas, COX (Figura 3), enzimas que convierten el ácido araquidónico que se encuentra en las membranas celulares en endoperóxidos cíclicos inestables, que se transforman en prostaglandinas (PG) y tromboxanos. Algunos de estos eicosanoides participan, en grado diverso, en los mecanismos patogénicos de la inflamación, el dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por los AINE sería responsable de su actividad terapéutica, aunque, dada su participación en determinados procesos fisiológicos, dicha inhibición sería también responsable de diversas reacciones adversas características de estos fármacos

MATERIAL Y MÉTODOS

Población y muestra

Población

Flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría" que crece en el distrito de Huancayo, provincia de Huancayo, Región Junín.

Muestra

Dos kilogramos de flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría".

Animales de experimentación

Ratas cepa Wistar con pesos de 190 +/- 20 g, que fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos, Lima.

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección de la muestra

Se seleccionó las flores intactas, se lavó con abundante agua y se secó a la sombra, en una habitación ventilada, sobre papel periódico,

aproximadamente por una semana, según lo establecido por Villar del Fresno.

Preparación del extracto hidroalcohólico

400g de flores secas de *Tanacetum parthenium* "santa maría" fueron molidas en un mortero de porcelana y luego se extrajo por maceración durante siete días con etanol de 80°. Se filtró con papel Whatman N° 40 y la solución hidroalcohólica se concentró a presión y temperatura reducida en un rotavapor y finalmente hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50°C.

Elaboración de los ungüentos

Se incorporó 1, 2 y 3 g de extracto al ungüento base csp 100 g. La fórmula para el ungüento base se preparó según lo propuesto por Swinyard y Lowental.

Ensayo fitoquímico cualitativo

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto alcohólico se realizaron siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.

Actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, DPPH

Uno de los métodos para determinar la actividad antioxidante es aquel que emplea al radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), que por su estabilidad es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.

$$\%AA = 100 - \frac{(Am - Ab)}{Ac} \times 100$$

Actividad antiinflamatoria

Edema plantar inducido por carragenina en ratas.

Se seguirá la técnica propuesta por Chiclana y *et al.* Los animales estuvieron en ayunas 12 horas antes del experimento.

- Se midió los volúmenes nomales de la pata derecha posterior de las ratas utilizando un pletismómetro manual de agua.
- Las ratas fueron separadas en 5 grupos de 5 ratas cada uno.
- El grupo I, control, recibió ungüento base hidrosoluble sin ningún principio activo. Al grupo II se le administró diclofenaco gel al 1%, mientras que los grupos III, IV y V recibieron los ungüentos preparados con el extracto de *Tanacetum parthenium* al 1, 2 y 3%, respectivamente.
- El edema se indució por inyección subplantar de 0,1 ml de suspensión de carragenina al 1% p/v, en la pata derecha posterior de cada rata.
- El volumen de la pata se midió antes de la inyección (0 h) y cada hora, durante 4 h, luego de la inyección de carragenina, para lo cual se utilizó un pletismógrafo de agua, registrándose los volúmenes desplazados por la extremidad del animal.
- Los ungüentos fueron aplicados inmediatamente luego de la inyección, y cubiertas con una gasa a fin de evitar pérdidas de ungüento por roce o por la propia limpieza del animal.
- Para realizar las mediciones el ungüento se removió y reemplazó luego de cada medición.
- Por diferencia de volúmenes de la pata medida antes de la producción de la inflamación y a los tiempos de 1, 2, 3 y 4 horas se calculó el porcentaje de inflamación producido para cada rata con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inflamación} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

RESULTADOS

Tabla 4. Ensayos químicos cualitativos del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

Metabolito	Ensayo	Resultado	Observación
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	++	Coloración azul intenso
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amilica de color rojo intenso
Lactonas y/o cumarinas	Bajjet	+++	Precipitado rojo
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman n-Burchard	+++	Coloración verde oscura
Aminoácidos	Ninhidrina	+	Coloración violeta

(+): Escaso (++) : Regular (+++) : Abundante

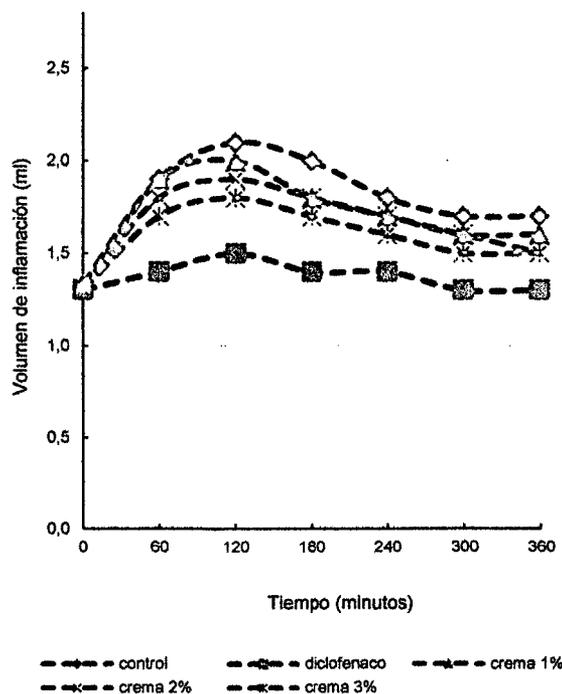


Figura 5. Variación del volumen de inflamación en función del tiempo por efecto del diclofenaco y los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2014.

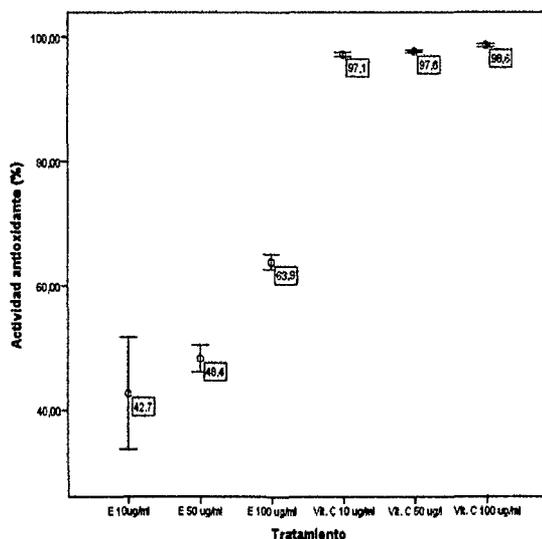


Figura 9. Porcentaje de actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y vitamina C. Ayacucho, 2014.

DISCUSIÓN

Asteraceae es la familia más grande de plantas; sus numerosos géneros y especies, de distribución mundial, y el hecho de que comprende muchas plantas útiles la han convertido en objeto de numerosos estudios. *Tanacetum* es uno de los géneros más importantes. *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" es una planta de amplio uso medicinal en diversas culturas del mundo de forma empírica o tradicional.

La Tabla 4, muestra las pruebas de identificación cualitativa de metabolitos secundarios realizadas al extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". La característica más saltante, en concordancia con lo referido en la literatura, es la presencia de lactonas sesquiterpénicas, un grupo de metabolitos característico de las compuestas.

En la Figura 5, se muestra el progreso de la actividad antiinflamatoria de los extractos y del estándar a través del tiempo. Es evidente la eficacia del fármaco de referencia diclofenaco, cuya actividad tópica, a raíz de estudios comparativos, es tan eficaz como el diclofenaco oral.

La Figura 8, muestra la distribución de los porcentajes de actividad antiinflamatoria obtenidos. Si bien los volúmenes de inflamación obtenidos en este trabajo difieren ligeramente de los obtenidos en otros trabajos similares, la actividad antiinflamatoria se puede percibir en vista de que los extractos exhiben comportamientos diferentes de manera concentración dependiente.

A todas luces, con estos resultados se demuestra una vez más que las flores de *Tanacetum parthenium* tiene efecto antiinflamatorio tópica, que además podría guardar relación con otros ensayos clínicos controlados realizados que dan cuenta de que tiene actividad antiinflamatoria significativa.

La actividad antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona en parte con las enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico. En el mecanismo antioxidante sobre la peroxidación lipídica de la quercetina precisamente está involucrada la vía del ácido araquidónico lo cual implica una

actividad antiinflamatoria paralela. En general los flavonoides polihidroxilados actúan por la vía de la enzima 5- lipooxigenasa, en tanto los menos hidroxilados lo hacen por la vía de la ciclo-oxigenasa. En cambio, *in vivo* pueden comportarse como inhibidores duales debido probablemente a la biotransformación que sufren en el organismo.

Es posible que la naturaleza lipofílica del partenóido favorezca la actividad a nivel dérmico. Así, *Tanacetum vulgare*, un congénere cuyas partes aéreas después de ser tratadas con diclorometano y metanol y la aplicación de técnicas cromatográficas convencionales de columna y de capa fina, fue posible aislar de las fracciones moderadamente lipofílicas principios responsables de la actividad antiinflamatoria de esta planta contra edema inducido en oreja de ratón.

Se ha encontrado la presencia de un flavonol en hojas, flores y semillas de *Tanacetum parthenium*. Pruebas farmacológicas indican que tanetina (6-hidroxi kamferol 3,7,4'-trimetil éter) podría contribuir a las propiedades antiinflamatorias de la "santa maría" mediante la inhibición de la generación de proinflamatorios eicosanoides, aunque es poco probable que sea el único compuesto biológicamente activo dentro de la planta.

Se sabe que los procesos inflamatorios y de daño celular cursan con producción de radicales libres por lo que cualquier actividad que haga frente a estos radicales libres estaría contribuyendo a inhibir el proceso inflamatorio. La actividad antioxidante evaluada en este estudio no es significativa, al menos *in vitro*. En la Figura 9, se muestra la distribución del porcentaje de actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" y vitamina C. La actividad captadora de los compuestos de prueba y el estándar se expresó en términos de la concentración necesaria para disminuir la absorción inicial de DPPH en 50% (IC50). Es notoria la potente actividad secuestradora de radicales libres (DPPH) que se logró con la Vitamina C, cuya naturaleza química y perfil antioxidante son conocidos ampliamente. Los extractos en cambio, exhibieron muy baja actividad antioxidante, lográndose un 63,9% de actividad a una concentración del 3%. En este sentido resulta muy poco relevante poder relacionar la actividad antioxidante de las flores de *Tanacetum parthenium* L. con su actividad antiinflamatoria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Halliwel B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews*. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 70(5):257-265. Disponible en: <http://nutritionreviews.oxfordjournals.org/content/70/5/257.abstract>
- Venereo G. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 31(2):126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
- Pascual S, Arbol F, Sánchez E, Casadevall C, Merlo V, Gea J, Barreiro E. Inflamación y estrés oxidativo en los músculos respiratorios y periféricos de pacientes con sepsis grave. *Medicina Clínica*. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 141(5):194-200. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775312005647>
- Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and

- phytomedicines: current status and future prospect. International journal of pharmaceutical sciences review and research. [revista en la Internet]. 2010 [citado 2015 Sep 26]; 3(1):91-100. Disponible en: <http://www.global-research-online.net/journalcontents/volume3issue1/Article%20021.pdf>
5. Mohsenzadeh F, Chehregani A, Amiri H. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages. Pharmaceutical biology. [revista en la Internet]. 2011 [citado 2015 Sep 26]; 49(9):920-926. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/13880209.2011.556650>
 6. Williams CA, Hoult JRS, Harborne JB, Greenham J, Eagles J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. Phytochemistry. [revista en la Internet] 1995 [citado 2015 Sep 26]; 38(1):267-270. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229400609W>
 7. Pareek A, Suthar M, Rathore G, Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip.): A systematic review. Pharmacogn Rev. [revista en la Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 26]; 5(9):103-10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210009/>
 8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Inflamación aguda y crónica. En Robins, Patología estructural y funcional. 8ª Edición. Barcelona: Elsevier; 2010. p 43-78.
 9. Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. Carcinogenesis. [revista en la Internet]. 2010 [citado 2015 Sep 26]; 31(1):37-49. Disponible en: <http://carcin.oxfordjournals.org/content/31/1/37.short>
 10. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. [revista en la Internet]. 2014 [citado 2015 Sep 26]; 14(1). Disponible en: <http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/471>
 11. Flórez J. Farmacología Humana. 3ª edición. Barcelona: Editorial Masson; 1997.
 12. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
 13. Swinyard E, Lowenthal W. Necesidades farmacéuticas. En Remington Farmacia. 17ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1987. p. 1733-1789
 14. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad La Habana: Universidad de La Habana; 2000.
 15. Aguilar E. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smilanthus sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante y antirradicalaria. [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
 16. Hernández S, Fernández C, Baptista L. Metodología de la investigación. 4ª Edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2006
 17. Chiclana CF, Enrique A, Consolini AE. Actividad antiinflamatoria local de *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) en el edema inducido por carragenina en ratas. Lat. Am. J. Pharm. [revista en la Internet]. 2009 [citado 2015 Sep 26]; 28(2):275-8. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/2/LAJOP_28_2_2_1_20617WK8JH.pdf
 18. Kuklinski C. Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Editorial Omega S.A.; 2003.
 19. Zaa C, Valdivia M, Marcelo Á. Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria alliacea*. Revista Peruana de Biología. [revista en la Internet]. 2012 [citado 2015 Sep 26]; 19(3):329-334. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332012000300015&script=sci_arttext&lng=pt
 20. Gonzales A, Palacios A. Estudio farmacognóstico y actividad antiinflamatoria del fruto *Averrhoa carambola* L. [Tesis Doctoral] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2003. Disponible en: http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2003/gonzales_sw/pdf/gonzales_sw.pdf
 21. Rodríguez Alcalá Francisco Javier. Evidencias para el uso de antiinflamatorios no esteroideos tópicos. Rev Clin Med Fam [revista en la Internet] 2013 [citado 2015 Sep 26]; 6(3):152-159. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699695X2013000300006&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S1699-695X2013000300006>.
 22. Sur R, Martin K, Liebel F, Lyte P, Shapiro S, Southall M. Anti-inflammatory activity of parthenolide-depleted Feverfew (*Tanacetum parthenium*). Inflammopharmacology [revista en la Internet]. 2009 [citado 2015 Sep 26]. 17(1):42-49. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10787-008-8040-9>
 23. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 2a ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2001.
 24. Ballester I. Relación estructura-actividad de los flavonoides como agentes antiinflamatorios intestinales. [Tesis Doctoral] España: Universidad de Granada. 2006 (Acceso, 08 de febrero del 2011). Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/1079/1/16236208.pdf>
 25. Kwok BH, Koh B, Ndubuisi MI, Elofsson M, Crews CM. The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb feverfew directly binds to and inhibits I κ B kinase. Chem Biol [revista en la Internet]. 2001 [citado 2015 Sep 26]; 8:759-66. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552101000497>
 26. Schinella GR, Giner RM, Recio MDC, Buschiazzi P, Ríos JL, Mández S. Anti-inflammatory Effects of South American *Tanacetum vulgare*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. [revista en la Internet]. 1998 [citado 2015 Sep 26]; 50(9):1069-1074. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-7158.1998.tb06924.x/full>
 27. Williams CA, Hoult JRS, Harborne JB, Greenham J, Eagles J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. Phytochemistry. [revista en la Internet] 1998 [citado 2015 Sep 26]; 1995; 38(1):267-270. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229400609W>