

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS DE
***Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. EN MODELO**
MURINO

Tesis de grado presentada para la obtención del Grado de Maestría

POR: MARÍA DEL PILAR GUTIERREZ DURÁN

LA PAZ – BOLIVIA

Marzo, 2013

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS DE
***Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. EN MODELO**
MURINO

Tesis de grado presentada para la obtención del Grado de Maestría

POR: MARÍA DEL PILAR GUTIERREZ DURÁN

TUTOR: Dr. Eduardo Gonzales Dávalos
Dra. María Dolores Veiga
Dr. Roberto Ruíz Caro

LA PAZ – BOLIVIA

Marzo, 2013

RESUMEN

La tesis se enmarca dentro de la problemática de la elevada incidencia de los efectos adversos provocados por el uso crónico de antiinflamatorios y la posibilidad de contar con una terapia alternativa o coadyuvante para el tratamiento de cuadros inflamatorios basada en la utilización de plantas medicinales empleadas tradicionalmente en Bolivia. En este sentido, la investigación se realizó con las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. procedentes de la Provincia Ingavi del Departamento de La Paz.

El objetivo principal de esta investigación fue el de profundizar en el conocimiento del efecto antiinflamatorio de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. a través de la evaluación de procesos inflamatorios inducidos, en modelo *murino*. Para alcanzar este objetivo, se desarrolló un plan de trabajo que se dividió en cuatro partes fundamentales: la autenticación de ambas especies vegetales estudiadas, el estudio de sus parámetros de calidad, el estudio fitoquímico cualitativo y el estudio farmacológico *in vivo*, de los diferentes extractos obtenidos.

La autenticación fue realizada sobre muestras representativas de las plantas recolectadas, en el Herbario Nacional de Bolivia, identificándose posteriormente como *X. spinosum* L. y *U. urens* L. El grado de su calidad fue determinado empleando las directrices propuestas por la Real Farmacopea Española y por comparación con muestras auténticas, lo que reveló la presencia de tricomas en *X. spinosum* L. y pelos urticantes unicelulares y pluricelulares en *U. urens* L. y valores de humedad, cenizas totales, cenizas ácidas, cenizas solubles, elementos extraños, índice de hinchamiento, dentro de los límites aceptables de calidad. Por otro lado, el protocolo desarrollado para la obtención de extractos por el método de polaridad creciente permitió la obtención de extractos etéreo, diclorometánico, etanólico y acuoso, los que mediante un *screening* fitoquímico cualitativo reveló la presencia mayoritaria de esteroides y flavonoides en *X.*

spinosum L. y taninos, alcaloides, compuestos reductores, esteroides, flavonoides y cumarinas en *U. urens* L. Adicionalmente, el perfil cromatográfico de los distintos extractos reveló la presencia de diferentes manchas en fases móviles asociadas principalmente con flavonoides. El estudio del efecto antiinflamatorio de los extractos se realizó en ratones albinos *Swiss*, siguiendo el protocolo de edema plantar inducido por carragenina y el estudio del efecto analgésico siguiendo el protocolo de inducción de contorciones abdominales por ácido acético. Los mayores valores de inhibición de la inflamación fue registrado para los extractos acuoso y etanólico de *X. spinosum* L. y de *U. urens* L., en tanto que la inhibición de la algesia fue más importante cuando se empleó extractos diclorometánico y etanólico de ambas especies vegetales.

Finalmente, la combinación de extractos acuosos de ambas especies estudiadas mostró un efecto sinérgico antiinflamatorio y analgésico, en tanto que la combinación de los extractos etanólicos de estas especies vegetales mostró sólo un efecto antiinflamatorio, no así analgésico.

SUMMARY

The thesis is inside of the problematic from high incidence of the adverse effects caused by the chronic use of anti-inflammatory and the possibility of having an alternative or adjunctive therapy for the treatment of inflammatory conditions, based on the use of medicinal plants traditionally used in Bolivia. In this sense, the research was conducted with the plant species *Xanthium spinosum* L. and *Urtica urens* L. natives from the Ingavi Province of La Paz Department.

The main objective of this research was to deepen the understanding of the anti-inflammatory effect of extracts of *Xanthium spinosum* L. and *Urtica urens* L. through the evaluation of inflammatory processes induced in murine model. To achieve this goal, we developed a work plan divided into four main parts: authentication of both plant species studied, the study of their quality parameters, the qualitative phytochemical and pharmacological study *in vivo*, of the different extracts achieved.

The authentication was performed by the National Herbarium of Bolivia on representative samples of the plants collected, later were identified as *X. spinosum* L. and *U. urens* L. The grade of quality was determined using the guide lines proposed by the Real Spanish Pharmacopoeia and by comparison with authentic samples, which revealed the presence of trichomes on *X. spinosum* L. and stinging hairs unicellular and multicellular in *U. urens* L. and humidity values, total ash, acidash, solubles ash, foreign elements and swellindex with in acceptable quality limits.

Furthermore, the protocol developed for obtain the extracts by the method of increasing polarity allowed obtaining ethereal extracts, dichloromethanic, ethanolic and aqueous, which through a phytochemical qualitative screening revealed predominant presence of sterols and flavonoids in *X. spinosum* L. and tannins, alkaloids, reducing compounds, sterols, flavonoids and coumarins in *U. urens* L.

Additionally, the chromatographic profile of the different extracts revealed the presence of different stains in mobile phases mainly associated with flavonoids. The study of the antiinflammatory effect of the extracts was suggested with *Swiss* albino mice, following the protocol of carrageenan induced edema and the study of the analgesic effect with the protocol for abdominal contortions induced by acetic acid. The highest values of inflammation inhibition was recorded for the aqueous and ethanol extracts of *X. spinosum* L. and *U. urens* L., where as algesia inhibition was more significant when employed dichloromethane and ethanol extracts of both plants.

Finally, the combination of aqueous extracts from both species showed a synergistic antiinflammatory and analgesic effect, while the combination of ethanolic extracts for these plants showed an antiinflammatory effect and not analgesic effect.

ABREVIATURAS

AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
CCF	Cromatografía en capa fina
NCE	Nuevas Entidades Químicas
NO	Óxido nítrico
TNF	Factor de necrosis tumoral
PGE2	Prostaglandina E ₂
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
GADD45	Gen supresor de tumores
THC	Título de hipersensibilidad de contacto
HPB	Hiperplasia prostática benigna
FCA	Adyuvante Completo de Freund
MDA	Malondialdehido
SOG	Sobrecarga oral de glucosa
LCD	Lipoproteínas de alta densidad
CP	Agente citotóxico cisplantino
CAT	Capacidad antioxidante total
LDH	Deshidrogenasa láctica sérica
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
PG_s	Prostaglandinas
PGI_s	Prostaciclina
LT_s	Leucotrienos
TX_s	Tromboxanos
FAP	Factor activador de plaquetas
COX	Ciclooxigenasa
SNC	Sistema Nervioso Central

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. ANTECEDENTES.....	9
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	11
1.3. OBJETIVOS.....	12
1.3.1. Objetivo General.....	12
1.3.2. Objetivos Específicos.....	13
1.4. HIPÓTESIS.....	13
1.5. ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
2. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1. REFERENCIAS BOTÁNICAS, ETNOFARMACOLÓGICAS, FARMACOLÓGICAS Y QUÍMICAS.....	16
2.1.1. Familia <i>Asteráceas</i>	16
2.1.2. Género <i>Xanthium</i>	17
2.1.2.1. Usos medicinales.....	18
2.1.2.2. Métodos de preparación tradicional de remedios a partir de las especies vegetales del género <i>Xanthium</i>	18
2.1.2.3. Fitoquímica del género <i>Xanthium</i>	19
2.1.2.4. Actividad farmacológica.....	20
2.1.2.5. Consideraciones Toxicológicas.....	22
2.1.2.6. Estudios clínicos.....	23
2.1.3. <i>Xanthium spinosum</i> L.....	23
2.1.3.1. Clasificación Botánica.....	23
2.1.3.2. Descripción botánica.....	24
2.1.3.3. Partes utilizadas.....	25
2.1.3.4. Propiedades y usos.....	25
2.1.3.5. Compuestos identificados.....	25
2.1.3.6. Estudios de toxicidad.....	26
2.1.3.7. Estudios farmacológicos pre clínicos.....	26
2.1.3.8. Estudios clínicos.....	27
2.1.4. Familia <i>Urticáceas</i>	28
2.1.5. Género <i>Urtica</i>	28

	Pág.
2.1.5.1. Usos medicinales.....	29
2.1.5.2. Métodos de preparación de tradicional de los remedios, de las especies vegetales del género <i>Urtica</i>	30
2.1.5.3. Fitoquímica del género <i>Urtica</i>	31
2.1.5.4. Actividad farmacológica.....	32
2.1.5.5. Consideraciones toxicológicas.....	37
2.1.5.6. Estudios clínicos.....	37
2.1.6. <i>Urtica urens</i> L.....	38
2.1.6.1. Clasificación botánica.....	38
2.1.6.2. Descripción botánica.....	39
2.1.6.3. Partes utilizadas.....	40
2.1.6.4. Propiedades y usos.....	40
2.1.6.5. Compuestos identificados.....	41
2.1.6.6. Estudios de toxicidad.....	42
2.1.6.7. Estudios farmacológicos pre clínicos.....	42
2.1.6.8. Estudios clínicos.....	43
2.2. INFLAMACIÓN.....	43
2.3. ANTIINFLAMATORIOS.....	47
2.3.1. Antiinflamatorios no esteroideos.....	47
2.3.1.1. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos...	48
2.3.1.2. Indometacina.....	49
2.3.1.3. Reacciones adversas.....	49
2.3.2. Antiinflamatorios esteroideos. Glucocorticoides.....	49
2.3.2.1 Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroideos.....	50
2.3.2.2. Dexametasona.....	50
2.3.2.3. Reacciones adversas.....	50
3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	52
3.1. MATERIAL VEGETAL.....	53
3.1.1. Recolección, secado, pulverización y conservación.....	53
3.2. ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS ESPECIES VEGETALES <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	54
3.2.1. Análisis micrográfico de las plantas recolectadas.....	54
3.2.2. Análisis de las características organolépticas de las plantas recolectadas.....	55
3.2.3. Determinación del contenido de humedad.....	55
3.2.4. Determinación de cenizas totales.....	55
3.2.5. Determinación de cenizas ácidas.....	55
3.2.6. Determinación de cenizas solubles en agua.....	56
3.2.7. Determinación de materia extraña en ambas plantas recolectadas.....	56

	Pág.
3.2.8. Índice de hinchamiento en ambas plantas recolectadas.....	56
3.3. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS: ETÉREO, DICLOROMETÁNICO Y ETANÓLICO DE AMBAS PLANTAS.....	56
3.3.1. Extractos acuosos.....	57
3.4. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CUALITATIVA DE GRUPOS MAYORITARIOS DE MOLÉCULAS EN LOS EXTRACTOS DE <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L. MEDIANTE LA TÉCNICA <i>SCREENING</i> FITOQUÍMICO.....	57
3.4.1. Taninos.....	57
3.4.2. Saponinas.....	58
3.4.3. Antraquinonas.....	58
3.4.4. Cumarinas.....	58
3.4.5. Flavonoides.....	58
3.4.6. Alcaloides.....	59
3.5. PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS DE AMBAS PLANTAS.....	59
3.5.1. Fases móviles.....	60
3.6. ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS DE AMBAS PLANTAS.....	60
3.6.1. Estudio de la Actividad antiinflamatoria.....	60
3.6.1.2. Edema plantar agudo inducido por carragenina en ratones.....	60
3.6.2. Estudio de la Actividad analgésica.....	62
3.6.2.1. Inducción de contorsiones con ácido acético en ratones.....	62
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	63
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
4.1. ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS ESPECIES VEGETALES <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	66
4.1.1. Análisis micrográfico de las plantas recolectadas.....	66
4.1.1.1. <i>Xanthium spinosum</i> L.....	66
4.1.1.2. <i>Urtica urens</i> L.....	67
4.1.2. Análisis de las características organolépticas de las plantas recolectadas.....	68
4.1.3. Determinación del contenido de humedad de ambas plantas.....	69
4.1.4. Determinación de cenizas totales de ambas plantas.....	70
4.1.5. Determinación de cenizas ácidas de ambas plantas.....	70
4.1.6. Determinación de cenizas solubles en agua de ambas plantas.....	71
4.1.7. Determinación de elementos extraños de ambas plantas.....	71
4.1.8. Determinación del índice de hinchamiento para ambas plantas.....	72

	Pág.
4.2. RENDIMIENTO DE LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN.....	73
4.3. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CUALITATIVA DE GRUPOS MAYORITARIOS DE MOLÉCULAS EN LOS EXTRACTOS DE <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L. MEDIANTE LA TÉCNICA <i>SCREENING</i> FITOQUÍMICO.....	74
4.4. PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS DE AMBAS PLANTAS.....	76
4.4.1. Extracto etéreo de ambas plantas.....	76
4.4.2. Extracto diclorometánico de ambas plantas.....	79
4.4.3. Extracto etanólico de ambas plantas.....	81
4.4.4. Extractos acuosos de ambas plantas.....	83
4.5. ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS DE AMBAS PLANTAS.....	84
4.5.1. Estudio de la actividad antiinflamatoria.....	84
4.5.2. Análisis inter-especie del efecto antiinflamatorio de los extractos de las especies vegetales <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	88
4.5.3. Estudio del efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos acuoso y etanólico de <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	90
4.5.3.1. Combinación 1:1 de extractos acuosos de <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	90
4.5.3.2. Combinación 1:1 de extractos etanólicos de <i>Xanthium</i> <i>spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	91
4.6. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA.....	92
4.6.1. Inducción de contorsiones con ácido acético.....	92
4.6.2. Estudio del efecto analgésico de la combinación de los extractos acuosos y etanólicos de las especies vegetales <i>Xanthium spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	94
4.6.2.1. Combinación 1:1 de extractos acuoso de <i>Xanthium</i> <i>spinosum</i> L. y <i>urtica urens</i> L.	94
4.6.2.2. Combinación 1:1 de extractos etanólicos de <i>Xanthium</i> <i>spinosum</i> L. y <i>Urtica urens</i> L.....	95
 5. CONCLUSIONES.....	 97
6. RECOMENDACIONES.....	99
7. BIBLIOGRAFIA.....	101
8. ANEXOS.....	118

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Producción anual de Productos en Bolivia.....	10
Figura 2.	Diagrama mostrando el desarrollo de los distintos aspectos estudiados en la presente investigación.....	14
Figura 3.	Gráfico de hojas, flores, fruto, semilla y la planta entera de <i>X. spinosum</i> L.....	25
Figura 4.	Gráfico de hojas, flores, fruto, semilla y la planta entera de <i>U. urens</i> L.....	40
Figura 5.	Generación de metabolitos del ácido araquidónico y sus funciones en la inflamación.....	45
Figura 6.	Mediadores químicos de la inflamación.....	47
Figura 7.	Desecación de las especies vegetales a) <i>X. spinosum</i> y b) <i>U. urens</i>	54
Figura 8.	Vista microscópica de elementos celulares de la planta recolectada a orillas del lago Titicaca: a) pelo tector de base ancha (400x); b) epidermis con estomas (100x); c): fibra lignificada (400x) y d) parénquima asociada a vasos (100x).....	67
Figura 9.	Vista microscópica de elementos celulares de la planta recolectada en el cantón Chama (Departamento de La Paz): a) pelo urticante unicelular (400 x). b) pelo pluricelular (400x). c) parenquima (400x).d) vaso helicoidal (400x).....	68
Figura 10.	Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etéreo de <i>X. spinosum</i> L. en fase móvil: a) tolueno /acetona b) tolueno/acetona (254 nm) c) Éter/acetona d) Éter/acetona (365nm) e) Éter/acetona (254nm).....	77
Figura 11.	Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etéreo de <i>U. urens</i> L. en fase móvil: a) tolueno /acetona b) tolueno/acetona (365 nm) c) Éter/acetona d) Éter/acetona (365nm).....	78
Figura 12.	Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto diclorometánico de <i>X. spinosum</i> L. en fase móvil: a) tolueno /acetona b) tolueno/acetona (365 nm) c) Éter/acetona d) Éter/acetona (365nm) e) Éter/acetona (254nm) f) tolueno/cloroformo/acetona g)tolueno/cloroformo/acetona (365nm)..	79
Figura 13.	Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto diclorometánico de <i>U. urens</i> L. en fase móvil: a) tolueno /acetona b) tolueno/acetona (365 nm) c) Éter/acetona d) Éter/acetona (365nm) e) Éter/acetona (254 nm) f) tolueno/cloroformo/acetona.....	80
Figura 14.	Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etanólico de <i>X. spinosum</i> L. en fase móvil: a) tolueno/cloroformo /acetona b) tolueno/cloroformo/acetona (365 nm) c) n-butanol/ácido acético glacial/agua d) n-butanol/ácido acético/agua (365nm).....	81

	Pág.
Figura 15. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etanólico de <i>U. urens</i> L. en fase móvil: a) tolueno/cloroformo /acetona b)tolueno/cloroformo/acetona (365 nm) c)tolueno/cloroformo/acetona (254 nm) d) n-butanol/ácido acético/agua e) n-butanol/ácido.....	82
Figura 16. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto acuoso de <i>X. spinosum</i> L. en fase móvil: a) n-butanol/ácido acético/agua (365 nm) b) n-butanol/ácido acético/agua (254 nm). Extracto acuoso de <i>U. urens</i> L. en fase móvil: c) n-butanol/ácido acético/agua (365 nm) d) n-butanol/ácido acético/agua (254 nm).....	83
Figura 17. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para los diferentes extractos de <i>X. spinosum</i> L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.....	86
Figura 18. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para los diferentes extractos de <i>U. urens</i> L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.....	87
Figura 19. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies vegetales <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L. a las 3 horas del proceso inflamatorio.....	88
Figura 20. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L. a las 5 horas del proceso inflamatorio.....	89
Figura 21. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies vegetales <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L. a las 7 horas del proceso inflamatorio.....	90
Figura 22. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para el extracto acuoso de <i>X. spinosum</i> L., el extracto acuoso de <i>U. urens</i> L. y el extracto combinado acuoso de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L. a las 3,5 y 7 horas del proceso inflamatorio.....	91
Figura 23. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para el extracto etanólico de <i>X. spinosum</i> L., el extracto etanólico de <i>U. urens</i> L., y el extracto etanólico combinado de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.....	92
Figura 24. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de <i>X. spinosum</i> L.....	93
Figura 25. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de <i>U. urens</i> L.....	94
Figura 26. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en ratones para el extracto acuoso combinado de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	95
Figura 27. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos etanólicos combinados de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	96

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Propiedades y usos de la especie vegetal <i>U. urens</i> L.....	41
Tabla 2.	Características organolépticas en droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	69
Tabla 3.	Contenido de humedad de droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	69
Tabla 4.	Contenido de cenizas totales de la droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	70
Tabla 5.	Contenido de cenizas ácidas de la droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	71
Tabla 6.	Contenido de cenizas solubles en agua de la droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	71
Tabla 7.	Contenido de elementos extraños de la droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	72
Tabla 8.	Índice de hinchamiento de la droga seca y pulverizada de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	72
Tabla 9.	Rendimiento de los extractos de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	73
Tabla 10.	<i>Screening</i> fitoquímico de <i>X. spinosum</i> L.....	74
Tabla 11.	<i>Screening</i> fitoquímico de <i>U. urens</i> L.....	75
Tabla 12.	Factores de retención (Rf) del extracto etéreo de <i>X. spinosum</i> L.....	77
Tabla 13.	Factores de retención (Rf) del extracto etéreo de <i>U. urens</i> L.....	78
Tabla 14.	Factores de retención (Rf) del extracto diclorometánico de <i>X. spinosum</i> L.....	80
Tabla 15.	Factores de retención (Rf) del extracto diclorometánico de <i>U. urens</i> L.....	81
Tabla 16.	Factores de retención (Rf) del extracto etanólico de <i>X. spinosum</i> L.....	82
Tabla 17.	Factores de retención (Rf) del extracto etanólico de <i>U. urens</i> L.....	83
Tabla 18.	Factores de retención (Rf) de los extractos acuosos de <i>X. spinosum</i> L. y <i>U. urens</i> L.....	84

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Eduardo Gonzales Dávalos, por su paciencia en la dirección de esta tesis, como por su apoyo y confianza.

A la doctora Paulina Bermejo, por haber confiado en mí y por su apoyo en el trabajo de investigación.

A los doctores María Dolores Veiga y Roberto Ruíz por su amabilidad y oportuna colaboración en la dirección de esta tesis, siempre que fue necesaria.

A mis compañeros de laboratorio Giovana, Anita, María Cristina, Brenda, Cervando, Daly y Maribel por los momentos compartidos.

A Lizet, Pamela, Oscar, Gustavo, Alejandro, Nelson, Luis, Wilmer y Juan Carlos, por su enorme amistad.

A los miembros del Departamento de Farmacología del Instituto de Investigaciones Fármaco-Bioquímicas que de alguna u otra forma han tenido que ver con el desarrollo de esta tesis.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo (AECID), por haber auspiciado la Maestría en Fitofarmacia mediante el proyecto D/031518/10, dentro del cual se realizó esta tesis.

Dedicada a:

Mi esposo, Horacio
Mis padres, María y Joaquín
Mi tía Irene
Mis hermanos, Patricia, Alejandro
y Paola
Mi amiga Giovana †

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El ser humano siempre ha buscado, y en muchas ocasiones ha encontrado, en el reino vegetal los remedios contra las enfermedades propias y las contraídas de su medio ambiente. La búsqueda para aliviar sus males y dolencias fue incesante, al grado de considerarse como uno de los rasgos que lo distingue de los animales. Desde el Paleolítico hasta nuestros días la búsqueda ha mantenido continuidad, primero sin más fundamento que la intuición y la táctica de la prueba error-acierto. Así el ser humano descubrió que algunas plantas podían aliviar el dolor, otras probaban ser fatales y unas pocas tenían efecto “mágico” sobre su mente y su cuerpo (Chávez, 1999).

En el reino vegetal existe una amplia variedad de plantas que poseen moléculas biológicamente activas, como algunos metabolitos secundarios con propiedades anticolinérgicas (atropina), analgésicas (alcaloides del opio), antiparasitarias (quinina), anticolinesterásicas (galantamina), antineoplásicas (vinblastina/vincristina) (Raskin y col., 2002), antimaláricas (Abdin, 2003), antiinflamatorias (Goldbach y col., 2006) y otras, muchas de estas moléculas han sido aisladas, identificadas y comercializadas con éxito, convirtiéndose en un mercado alternativo para la industria farmacéutica a nivel mundial (Talhouk y col., 2007).

Entre 1981 y 2006 la tasa de aprobación de Nuevas Entidades Químicas (NCE) alcanzó 50% para las moléculas de productos naturales (Newman y col., 2007).

Las principales áreas que han sido investigadas (en términos de número de medicamentos aprobados) en la industria farmacéutica siguen siendo primordialmente las áreas de enfermedades infecciosas (microorganismos, parásitos y virus), el cáncer, antihipertensivos, e indicaciones de antiinflamatorios, todas con más de 50 medicamentos aprobados.

En Bolivia no se cuenta con información estadística de la aprobación de medicamentos que contengan principios activos de origen vegetal. Sin embargo, se cuenta con estimaciones contrastadas de la producción anual de hierbas con propiedades medicinales (figura 1). Así por ejemplo los volúmenes de exportación de productos

medicinales, de este tipo, oscilan entre 50 a 500 Kg por año para productos de demanda limitada y entre 5 a 8 toneladas por año para los de consumo masivo (ONUDI, 2008).

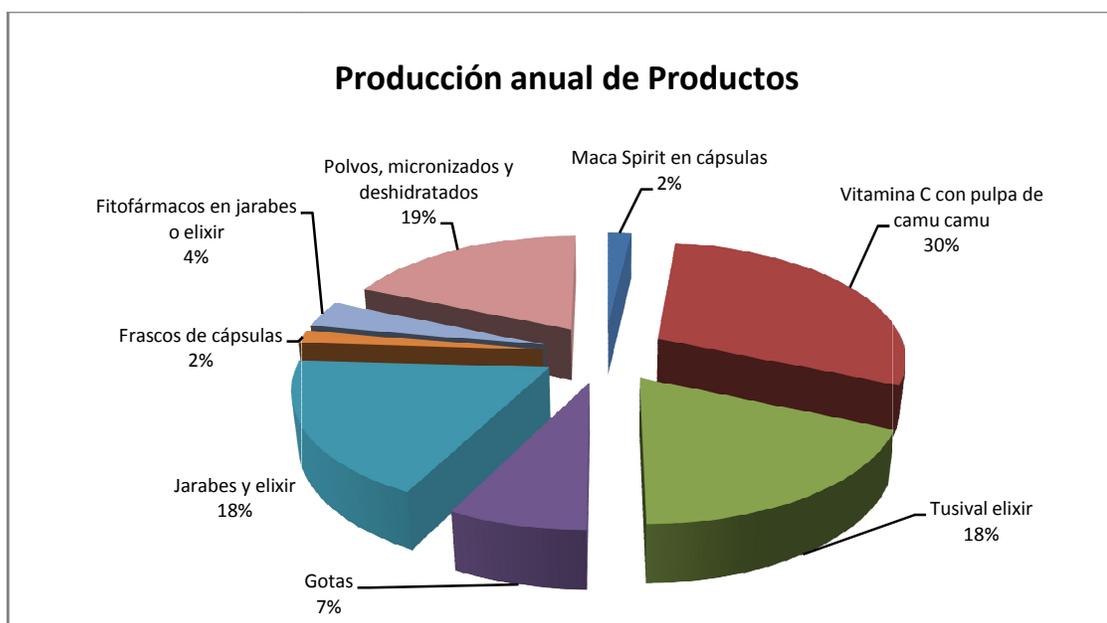


Figura 1. Producción anual de Productos en Bolivia (ONUDI, 2008)

Lo mencionado con anterioridad revela el uso milenario de las especies vegetales y su importancia en la medicina moderna, proporcionando nuevas moléculas activas que sirven de modelo para la producción de moléculas sintéticas o moléculas modificadas y la consecuente producción de medicamentos.

Sin embargo, se puede indicar que los medicamentos de origen vegetal constituyen un segmento importante entre los productos farmacéuticos, siendo en los países más desarrollados donde se registra un incremento de su uso, respecto de los medicamentos farmacéuticos convencionales. Este incremento en el consumo de medicamentos con base en recursos naturales ha llevado a estos países a diseñar mecanismos de control dentro de sus farmacopeas nacionales que garanticen, mediante métodos físico-químicos, la calidad del material vegetal como materia prima para las preparaciones

farmacéuticas, puesto que la falsificación, la mala calidad o la adulteración en estos productos constituye una grave amenaza a la seguridad del paciente.

Por ello es necesario estudiar la actividad terapéutica de las especies vegetales que han reportado un efecto medicinal en su uso tradicional, lo que permitiría brindar una atención alternativa de salud primaria, más segura en los países en vías de desarrollo.

Con el presente trabajo, se pretende validar el uso tradicional de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. en el tratamiento de procesos inflamatorios mediante el empleo de modelos *Murino* y la caracterización física y química de la materia prima vegetal.

1.2. Planteamiento del problema y Justificación

En los países industrializados existe una marcada tendencia de interactuar con la naturaleza y una creciente susceptibilidad hacia los avances científico-tecnológicos y el valor de los productos de la industria farmacéutica, considerándose "tóxicos" o repletos de "químicos", nocivos para la salud, por lo que se está evidenciando un notable crecimiento del mercado de medicamentos basados en las plantas con cualidades medicinales.

Para el año 2020, la población mundial habrá alcanzado la cifra de 7.5 mil millones de habitantes, de los cuales el 75% vivirá en países en vías de desarrollo aproximadamente menos del 15% del mercado farmacéutico. En Bolivia la población creció de 8.274.325 en el censo 2001 a 10.389.913 de habitantes en el censo 2012, lo que hace suponer que esta masa poblacional buscará con mayor frecuencia en el reino vegetal, la cura de sus patologías (Estrella, 1994; INE 2012).

En el tratamiento de procesos inflamatorios el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) está muy extendido alcanzando más de cien millones de prescripciones cada año en todo el mundo (Villa y col., 1999). Aunque la prevalencia de efectos adversos por el consumo de AINES varía ampliamente, al menos de 10 a 20 % de los pacientes tienen dispepsia mientras consumen los mismos; de 15 a 25% de los pacientes que

consumen AINES desarrollan úlcera gastroduodenal y 1,5% de los pacientes con artritis reumatoide que toman AINES, durante un año, presentan complicaciones gastrointestinales graves (Soriano y col., 2000). Es por ello que la investigación en tratamientos clínicos en base a plantas medicinales, que no presentan efectos adversos en la salud, toma gran importancia en el tratamiento de los procesos inflamatorios (Jail y col., 2003; Okoli y col., 2005; Laupattarakasen y col., 2006).

La búsqueda de nuevos agentes antiinflamatorios y analgésicos en plantas que tradicionalmente se utilizan como antiinflamatorias o en el tratamiento del dolor es una estrategia viable y lógica (Gupta y col., 2006). En este sentido, el empleo de las plantas medicinales permite en muchos casos mejorar el proceso patológico y en otros resolverlo sin llegar a producir efectos tóxicos (Cañavate, 1995).

En Bolivia, un país en vías de desarrollo, donde la gran mayoría de los habitantes utiliza las plantas medicinales para el tratamiento de diversas patologías en forma de emplastos, extractos crudos y otros, se hace imperiosa la necesidad de validar el uso de estas especies vegetales y así garantizar su eficacia y seguridad terapéutica, además de avalar su empleo en la medicina tradicional y/o en la fitoterapia.

Por tanto, la presente tesis de maestría, plantea definir las potencialidades que tienen dos especies vegetales, *Urtica urens* y *Xanthium spinosum*, empleadas en la medicina tradicional nacional, investigando la actividad antiinflamatoria de sus extractos.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en este trabajo de investigación, se plantea como objetivo principal, evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L., para potenciar su uso tradicional y caracterizar sus propiedades hacia la elaboración de productos naturales derivados.

1.3.2. Objetivos específicos

Para alcanzar el objetivo general, se han de concretar las siguientes tareas específicas:

1. Recolectar y autenticar las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. mediante protocolos del Herbario Nacional de Bolivia.
2. Realizar la caracterización físico química del material vegetal con la finalidad de establecer la calidad del material de partida.
3. Evaluar el efecto antiinflamatorio y analgésico de todos los extractos obtenidos de las dos especies vegetales en estudio, en modelos *murino*.

1.4. Hipótesis

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado “la caracterización físico química y del efecto antiinflamatorio de los extractos de las especies *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. permitirán potenciar sus propiedades medicinales.”

1.5. Esquema de la investigación

Para lograr los objetivos trazados en la investigación se ha planificado las actividades de acuerdo con el esquema de la figura 2.

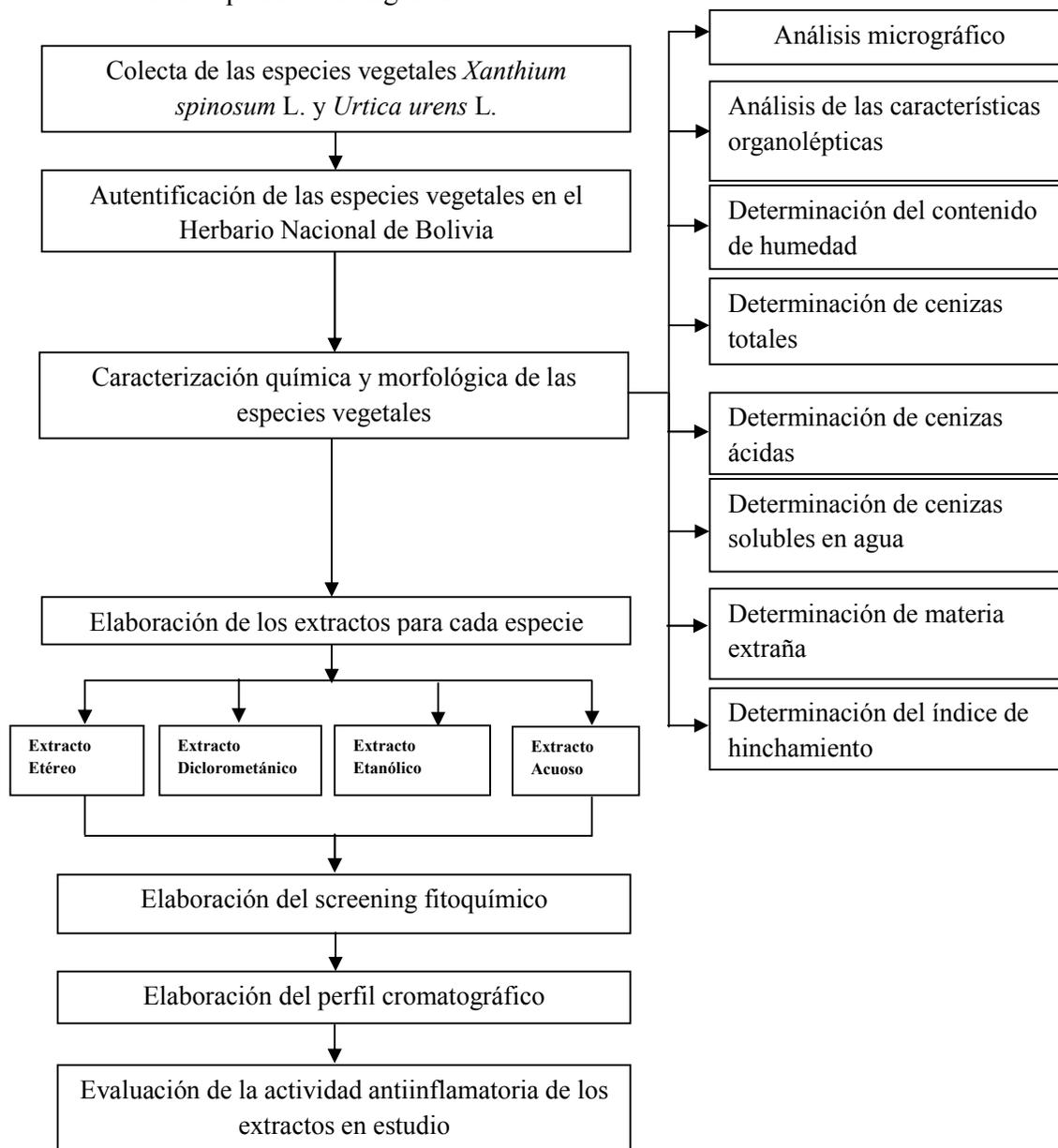


Figura 2. Diagrama mostrando el desarrollo de los distintos aspectos estudiados en la presente investigación.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Referencias botánicas, etnofarmacológicas, farmacológicas y químicas

La aplicación de la medicina tradicional en Bolivia sienta sus bases en los saberes adquiridos a través de incontables generaciones a lo largo del tiempo, estos saberes constituirían los fundamentos para llevar a cabo estudios científicos de identificación de especies vegetales medicinales y sus correspondientes ensayos preclínicos *in vitro* e *in vivo*, pruebas toxicológicas y posteriormente sus estudios clínicos. De esta manera se garantizaría la calidad, inocuidad y eficacia de los medicamentos herbarios en el tratamiento de determinados cuadros clínicos.

2.1.1. Familia *Asteráceas*

La familia de las *Asteráceas* (nombre antiguo: *Compositae*) es el grupo más numeroso dentro de las angiospermas y comprende alrededor de 1100 géneros y 25.000 especies, son de distribución cosmopolita, pero están mejor representadas en las regiones templadas o subtropicales (Cronquist, 1981; Verdi y col., 2005).

Las especies vegetales que pertenecen a la familia *Asteráceas* son empleadas en la medicina tradicional para tratamientos de diversas dolencias. La diversidad y complejidad de los componentes químicos en las plantas pertenecientes a esta familia son enormes, entre estos se encuentran los sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, flavonoides, cumarinas, alcaloides y compuestos acetilénicos (Lin y col., 2008). Sin embargo, su característica más llamativa es la producción de sesquiterpen-lactonas, presentes en todas sus tribus.

Un estudio realizado en los valles de Cochabamba reportó que del total de especies medicinales presentes en la familia *Asteráceas*, 26% son las que se usan en afecciones gastrointestinales siendo estas la mayoría, 16% son utilizadas en enfermedades del sistema esquelético-muscular y 13% son utilizadas en enfermedades dermatológicas (Arrázola y col., 2002).

Según Stefanello (1993) la familia *Asteráceas* se destaca por ser una de las más utilizadas en la medicina popular, con más de 800 especies con algún tipo de uso

medicinal. Este éxito se correlaciona con su diversidad química, su amplia gama de distribución geográfica y su facilidad de cultivo.

La familia *Asteráceas* está compuesta mayoritariamente por especies herbáceas, arbustos o árboles y raramente por subarbustos, se caracteriza por formar semillas con primordios seminales encerrados en una cubierta protectora denominada carpelo o pistilo, que al madurar originan un fruto. Las hojas de las plantas de esta familia son compuestas o simples, dispuestas de manera alterna, a veces opuestas y rara vez verticiladas. Las flores de las *Asteráceas* se caracterizan sobre todo por agruparse en cabezuelas sostenidas por brácteas involucrales, presentar cáliz ausente o modificado (vilano), corolas semipétalas, estambres singenésicos, un par de carpelos sincárpicos, un ovario ínfero y un solo óvulo de placentación basal. Su fruto, es un aquenio generalmente acompañado por un papús que facilita su dispersión por el viento, aunque también puede desarrollar espinas o ganchos cuando su diseminación es entomófila (Rzedowki, 1978; Cabrera y Villaseñor, 1987; Cronquist, 1989; Villaseñor, 1993; Judd y col., 2002).

2.1.2. Género *Xanthium*

Este género perteneciente a la familia de las *Asteráceas* (*Compositae*) tiene su origen en las Américas y Asia Oriental, sin embargo, puede encontrarse en casi todas las latitudes y altitudes que van desde el nivel del mar hasta las zonas montañosas.

El número de especies de este género es debatible, va de unos pocos a una docena. El nombre *Xanthium* se origina de “xanthos” que significa amarillo.

Muchas especies de este género contienen estructuras de defensa situadas en los salientes exteriores, mientras que otras acumulan compuestos tóxicos que les sirven para repeler agresiones externas. Sus flores pueden presentarse de dos maneras, en forma de racimos que producen semillas y con las ramas terminales cortas que sólo producen polen. Sus semillas, están cubiertas por espinas ganchudas que permiten su adherencia a numerosos medios de transporte y por tanto su propagación. Sus frutos, son duros, espinosos, con cubiertas globosas que poseen cámaras dobles en las que se alojan dos

semillas. Los *Xanthium*, a diferencia de la mayoría de las plantas, florecen en días de corta duración como en otoño cuando las noches son más largas (Joseph y col., 2009).

2.1.2.1. Usos medicinales

En la práctica de la medicina tradicional, las especies vegetales de este género son utilizadas como antimicrobianas, antifúngicas, diuréticas, emolientes laxantes, hipotérmicas, astringentes, antirreumáticas y en el tratamiento de las úlceras.

Una de las especies del género *Xanthium* más utilizada en la medicina tradicional es *Xanthium strumarium* L., sus frutos, se utilizan en China para tratar la sinusitis, el reumatismo, el prurito y como digestivo (Ma y col., 1998).

Otra especie ampliamente difundida es *Xanthium indicum* (Koenig, Ghagra), la que se utiliza como diaforética, diurética, sudorífica y depresora del sistema nervioso central. La decocción de sus hojas se emplea para tratar problemas urinarios y renales, blenorragia, leucorrea y menorragia. Sus semillas son usadas para el tratamiento de inflamaciones. Sus frutos son ricos en vitamina B y se utilizan en el tratamiento de la viruela, herpes, afecciones de la vejiga y como emolientes (Ghani, 2003).

Asimismo, la especie *Xanthium catharticum* se utiliza como diurética, emética y purgativa y, en el tratamiento de enfermedades de la próstata (Cumanda y col., 1991).

Finalmente, la especie *Xanthium spinosum* L., conocida en La Paz-Bolivia como “amor seco”, se utiliza como antiinflamatoria, antiséptica y diurética y, para tratar afecciones hepáticas y estomacales (Gupta, 1995; Zalles, 1991).

2.1.2.2. Métodos de preparación tradicional de remedios a partir de las especies vegetales del género *Xanthium*

Entre los métodos de preparación de remedios a base de *Xanthium* existen dos ampliamente difundidos, la infusión y el emplasto. En el primer caso, una cantidad de hojas o semillas machacadas son introducidas en una porción de agua hervida y caliente, posteriormente la infusión de *Xanthium* es separada de los sólidos mediante filtración y ésta lista para su consumo. En el segundo caso, una cantidad de hojas de *Xanthium* es

cocida en una pequeña porción de agua, luego, las hojas cocidas y empapadas son aplicadas sobre la zona del cuerpo afectada. Es de hacer notar que, la primera forma de preparación involucra la ingesta de los principios activos extraídos de la planta, en tanto que el segundo caso implica la absorción tópica de los principios activos. Estas vías de administración están sujetas al tipo de afección sanitaria.

2.1.2.3. Fitoquímica del género *Xanthium*

La química de este género es bastante homogénea, en todos los casos estudiados se encontraron xanthanolidos y sesquiterpenlactonas. En las hojas y frutos del género *Xanthium* se encontraron diterpenos, lactonas sesquiterpénicas y ácidos cafeoilquínicos entre otros (State tradicional Chinese, 1999; Ying y col., 2008; Ma y col., 1998; Ting y col., 2006; Qin y col., 2006; Han y col., 2006). Por ejemplo, se reportó que *Xanthium strumarium* posee ácido caféico y ácido clorogénico (Anjoo y col., 2010); las hojas de *Xanthium pungens* probaron contener D-limoneno y mirceno en cantidades significativas (Ammar y col., 1992); un estudio del aceite esencial de la parte aérea de *Xanthium brasiliicum* reveló la presencia de borneol, fenchona y acetato de isobornilo como principales componentes (Zohreh y col., 2004); en el estudio de la especie *Xanthium spinosum*, realizado por Piacente y col. (1996), se aisló 2 β -O- β -D-glucopiranosil-15 α -hidroxi-kaureno-16-en-18,19, ácido dicarboxílico 4'-desulfatado carboxiatractilósido y 4'-desulfatado atractilósido, junto con las ya conocidas 3',4' didesulfatado carboxiatractilosido y 3',4' didesulfatado-atractilósido; en la revisión presentada por la revista Canadiense de Fisiología y Farmacología sobre compuestos con propiedad anticancerígena del *Xanthium strumarium* se determinó que esta especie contiene los sesquiterpenos *xanthatin* y *xanthinosin* (Irving y col., 2007); de la parte aérea de *Xanthium pungens* se aisló el compuesto 11, 13 dihidroxixanthanolido (Ahmed y col., 1990; Abdei y col., 1991); finalmente, se constató que *Xanthium spinosum* L. contiene β -sitosterol en la fracción soluble de su extracto etéreo, quercetina en su extracto de acetato de etilo y cuatro flavonoides al estado de heterósidos en su extracto metanólico (Salinas y col., 1998).

2.1.2.4. Actividad Farmacológica

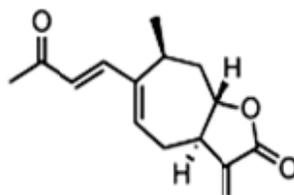
De acuerdo con la bibliografía consultada, el estudio de la actividad farmacológica de las especies del género *Xanthium* se realizó mayoritariamente en los extractos crudos o en una preparación de ellos, aunque también, numerosos estudios se han enfocado en la investigación de los metabolitos activos específicos aislados de los extractos.

Así por ejemplo, el estudio de la actividad antiinflamatoria, analgésica y antioxidante del extracto acuoso de los frutos de *Xanthium sibiricum* fue realizado empleando ratones y el modelo de edema plantar inducido por carragenina, el modelo de contracciones abdominales inducidas por ácido acético y formalina, y ensayos *in vitro*, respectivamente. Este extracto acuoso, disminuyó el edema de pata en la quinta hora de su administración, el nivel del óxido nítrico en suero (NO) y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α ; produjo una actividad inhibitoria sobre el efecto del ácido acético y redujo el efecto de la formalina en la fase tardía; (Jeong y col., 2008; Ming y col., 2011). Los resultados de la evaluación del extracto metanólico de semillas de *Xanthium strumarium* L. indicaron que es un potente inhibidor de la producción de NO, PGE2 y TNF- α . La evaluación del efecto antiinflamatorio y antinociceptivo *in vivo* con dosis orales de 100 y 200 mg/kg de peso corporal, redujo el edema y mostró actividad analgésica en las pruebas de contorciones abdominales inducidas por ácido acético y de placa caliente en ratones (In-Tae y col., 2005). Por último, un estudio de fraccionamiento bioguiado (en ratones) del extracto etanólico de *Xanthium strumarium*, la fracción n-butanólica mostró una significativa actividad antiinflamatoria cuando se empleó el modelo de edema de oreja inducido por aceite de crotón, además de reducir el número de contorciones inducidas por ácido acético (Han y col., 2007).

El estudio realizado por Laura y col. en 2005, acerca del efecto preventivo de la administración de xanthanolidos naturales, y específicamente del compuesto *xanthatin*, sobre la formación de úlceras inducidas por etanol absoluto en ratas, mostró una reducción del número de ulceraciones en un intervalo de 58-96% empleando una dosis de 12.5 a 100 mg/kg de peso corporal.

Por otra parte, Farahnaz y col. (2004) reportaron que los extractos metanólico y acuoso de la parte aérea de *Xanthium brasiliicum* poseen actividad antihelicobacter *pylori*, empleando para ello, el método de sensibilidad de disco, con un porcentaje de erradicación del 66%; en tanto que, Sato y col. (1997) estudiaron los componentes de la especie vegetal *Xanthium sibiricum* los que presentaron actividad antibacteriana eficaz contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, al igual que su compuesto aislado *xanthatin* frente a las cepas de MRSA y MSSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) siendo ésta última altamente específica. Endalkachew y col. (2011) estudiaron al *xanthatin*, compuesto principal bioactivo de la especie *Xanthium strumarium*, por su efecto tripanocida sobre el *Trypanosoma brucei*, reportando un valor de IC₅₀ de 2.63mg/mL, además de un valor de 24% en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas (PGE₂) y 92% de 5-lipooxigenasa, en concentraciones de 100 mg/mL y 97 mg/mL, respectivamente.

De manera similar, se encontró que *xanthatin* posee diferentes actividades farmacológicas, como ser: antiinflamatorias, antimaláricas y anticancerígenas, como inductor selectivo del gen supresor de tumores GADD45 en células cancerosas humanas, especialmente en el cáncer de mama (Takeda y col., 2011).



xanthatin

Por su parte, Sanjeev y col. (2012) investigaron la actividad antiplasmodial del extracto etanólico de las hojas de *Xanthium strumarium* en ratones infectados por *Plasmodium berghei* empleando extracto en dosis de 150, 250,350 y 500 mg/kg/día, alcanzando valores de inhibición de 91,1%, 87,1% y 85,4% en las tres primeras dosis de administración.

El estudio de los extractos diclorometánicos de dieciséis especies nativas de la familia *Asterácea* sobre la actividad contra protozoos patógenos reveló que *Xanthium brasiliicum* fue la más activa contra el *Trypanosoma brucei* rhodesiense, agente etiológico de la tripanosomiasis humana de África Oriental, mostrando una inhibición significativa administrando una concentración media de 0,1µg/mL. Este extracto también presenta una notable actividad contra *T. cruzi* (enfermedad de Chagas), *Leishmania donovani* (kala-azar) y *Plasmodium falciparum*. La actividad de este extracto bioguiada por fraccionamiento dio como resultado el aislamiento de cuatro compuestos activos, como ser: 8-epixanthatin, 8-1β epixanthatin, 5β epóxido y xanthanolides pungiolide A y B (Nour y col., 2009).

El estudio del extracto acuoso de frutos de *Xanthium strumarium* realizado por Mi-Young Song y col. en 2009, mostró la protección que proporciona este extracto a las células β del páncreas contra su destrucción, mediante la prevención de la activación de NF- κB, lo que sugiere una posible medida preventiva o terapéutica contra la diabetes tipo 1.

Lee y col. (2008) de la Universidad Nacional Kyungpook de Korea identificaron el compuesto 3,4- dihidroxibenzaldehído a partir del fruto de *Xanthium strumarium* , el que manifestó una inhibición de 50% en el crecimiento de células cancerígenas humanas, además indujo la fragmentación del ADN de las células cancerígenas desencadenando su apoptosis. Estos resultados sugieren que este compuesto podría actuar como un inhibidor de la enfermedad oncogénica.

Finalmente, se determinó que el extracto de *Xanthium strumarium* posee actividad antitusiva dosis-dependiente en ratones, con un potencial comparable al fármaco estándar fosfato de codeína en una dosis de 10mg/kg (Dong y col., 2002; Mandal y col., 2005).

2.1.2.5. Consideraciones Toxicológicas

La toxicidad se define como la cantidad de un compuesto que interfiere en el funcionamiento normal de un organismo.

En algunas de las especies del género *Xanthium* sus semillas son causantes de daño tóxico en animales atribuible a la presencia del carboxyattractilósido (Islam y col.,2009; Masyingwe y col., 1998; Roussakis y col., 1994). En comtrapartida, un estudio realizado para determinar el daño genotóxico de un extracto acuoso de *Xanthium strumarium* se comprobó que este extracto no induce la formación de micronúcleos y por tanto no posee efecto genotóxico (Diaz, 2002).

La medicina popular señala que dosis altas de estas especies pueden provocar estados depresivos y anticonceptivos, por otra parte, se puede afirmar que toda especie de la familia *Asteraceae*, puede provocar cuadros alérgicos en personas sensibles (Brinker, 1998).

2.1.2.6. Estudios clínicos

La revisión bibliográfica sobre estudios clínicos realizados con especies del género *Xanthium* revela que existen muy pocas investigaciones, un ejemplo de éstas, es en la que se evaluó el patrón de sensibilidad cruzada entre cuatro especies de la familia de las compuestas, *Parthenium hysterophorus* L., *Xanthium strumarium* L., *Helianthus annuus* L., *Chrysanthemum coronarium* L., en 63 pacientes con diagnóstico clínico de dermatitis por contacto en el aire, la prueba se realizo con parches y cantidades estandarizadas de extractos acuosos. El título de hipersensibilidad de contacto (THC) determinado en los pacientes alérgicos a *Parthenium hysterophorus* L., *Xanthium strumarium* L., *Helanthus annuus* L., mostró valores que varían ampliamente con cada especie vegetal en los distintos pacientes y no hay paralelismo entre el THC con varias plantas (Nandakishore y col., 1994; Kar y col. (2009).

2.1.3. *Xanthium spinosum* L.

2.1.3.1. Clasificación Botánica

Reino	: Vegetal
División	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas

Orden : Compuestas
Familia : Asteráceas
Género : *Xanthium*
Especie : *Xanthium spinosum* (Mostacero, 1998)

Nombres comunes: Abrojo
Amor seco
Espina de perro
Juan de Alonzo (Santa Cruz)
Choquchapi (Valle alto de Cochabamba)
Qopajchi (Torotoro y el río Caine - Potosí)
Anuchapi (Aymará)
Alqo khichkha (Quechua)
Urusumaru (Chiriguano).

Esta especie forma parte de la colección del Herbario Nacional de Bolivia, su distribución en Bolivia es variable ya que nos encontramos con ejemplares provenientes de diferentes regiones de La Paz, Cochabamba y Santa Cruz.

2.1.3.2. Descripción botánica

X. spinosum L. es una especie vegetal de crecimiento anual, presenta una altura de hasta 1,5 metros, sus tallos son erectos, ramosos, hojosos, con largas espinas amarillas trifurcadas y punzantes que salen de la base de las hojas. Sus hojas son lanceoladas, agudas en el ápice, enteras o con uno a dos lóbulos laterales, cortamente pecioladas, pubescentes en el haz y albo tomentosas en el envés. Sus flores están dispuestas en racimos axilares, son poco visibles, verdosas y monoicas, arregladas en capítulos globosos (flores masculinas) y en capítulos axiales (flores femeninas) dispuestas en espigas terminales sésiles. Su fruto esta cubierto totalmente de espinas ganchudas y

punzantes. Es una especie originaria de las zonas cálido – templadas de América del Sur y difundida en casi todo el mundo. Crece en suelos secos, arenosos, especialmente en los abandonados (Gupta, 1995).



Figura 3. Gráfico de hojas, flores, fruto, semilla y la planta entera de *Xanthium spinosum* L.

2.1.3.3. Partes utilizadas

Se utilizan sus tallos y hojas. Ocasionalmente su raíz y sus semillas.

2.1.3.4. Propiedades y usos

X. spinosum L. ha sido conocida y utilizada en la medicina tradicional desde tiempos precolombinos, Gupta (1995) en su libro “Plantas medicinales de Iberoamérica” señala que esta especie vegetal es empleada como antiinflamatoria, diurética, antipalúdica, antidiarréica, antihemorrágica y antiséptica, se ingiere en decocciones e infusiones para el tratamiento de afecciones de la garganta, hepáticas y de ovarios, en enfermedades reumáticas, del bazo, riñones y del estómago.

2.1.3.5. Compuestos identificados

Salinas y col. (1998) aislaron del extracto etéreo de *X. spinosum* L. el compuesto β – sitosterol, del extracto de acetato de etilo un pigmento flavonoide, cuya identificación corresponde a quercetina, y del extracto metanolico aislaron cuatro flavonoides al estado

de glicósidos pendulina, ioceína, centaurina y 3-O-glicósido patuletina, además de lactonas sesquiterpénicas entre ellas douglanina y reynosina.

Las semillas demostraron ser una muy buena fuente de magnesio, lo cual resulta útil en casos de calambres y trastornos musculares (Chirigui y col., 2003).

De la parte aérea de *X. spinosum* L. se aisló las siguientes xanthonas: Xanthinin, Ivalvin, Xanthatin, Xanthatin-1 α ,5 α -epoxido (1 α ,5 α -epoxyxanthatin), Xanthanol, Isoxanthanol, 2-Hydroxyxanthinosin, 2-O- β -D glucopiranosil 11 α , 13-dihydro-8-epi-deacetyl-xanthiuminol, 4-O- β -D glucopiranosil 11 α , 13-dihydro-8-epi-deacetyl-xanthiuminol, 2-desacetil-8-epixanthumanol-4-O- β -d galactopiranoside, 2-oxo-4-O-acetil-desacetil-xanthanol, Cyclospinosolide (Vasas y col., 2011).

2.1.3.6. Estudios de toxicidad

En el Departamento de Farmacología de la Universidad Mayor de San Andrés se realizó la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de *X. spinosum* L. en ratones albinos *suizos*, administrándose 500, 750, 1000 y 3000 mg del extracto etanólico por kg de peso corporal, se determinó el porcentaje de sobrevivencia y/o mortalidad, dentro de las veinticuatro horas de evaluación no se presentó mortalidad con las dosis más alta (3000 mg/kg).

En otro estudio se evaluó la genotoxicidad del extracto hicroalcohólico de *X. spinosum* L. mediante la prueba de micronúcleos, los resultados indicaron que los grupos evaluados con el extracto no presentaron toxicidad ni genotoxicidad en esta prueba (Jimenez y col., 2008).

2.1.3.7. Estudios farmacológicos pre clínicos

Según la información bibliográfica de estudios farmacológicos preclínicos obtenida de ésta especie vegetal, sobre todo se encuentran investigaciones de actividad digestiva, antiinflamatoria, antimicrobiana y diurética entre otras.

Sosa y col. (2000) estudiaron el extracto acuoso al 5% de la parte aérea de *X. spinosum* y *Coronopus didymus* en pruebas de excreción biliar en ratas, los resultados dan un

efecto similar al del fármaco de referencia (ácido taurocólico), este extracto en administración conjunta con un extracto acuoso de *mastuerzo* (*Coronopus didymus*) evidencio un aumento de la motilidad intestinal en conejos, este efecto se justificaría por la presencia de de antraquinonas (Salinas y col., 2000); en otra investigación el extracto hidroalcohólico de la especie *X. spinosum* L. presentó actividad gastroprotectora mediante el modelo de ulcera inducida por etanol absoluto, donde el extracto alcanzó una inhibición del 78,94% con respecto al fármaco de referencia (omeprazol) que presentó una inhibición de 63,15%, estos datos fueron estadísticamente significativos en comparación al grupo control ($p < 0.05$) (Fernández y col., 2008).

Por otra parte, los extractos etanólico y acuoso de *X. spinosum* L. demostraron poseer actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* y *Klebsiella pneumoniae*, bajo control con gentamicina y nistatina (Fernández y col., 1993). Asimismo, la sesquiterpenlactona ziniólido presentó un débil efecto acaricida y antibacteriano frente a *Micrococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, este compuesto también demostró tener una importante actividad inhibidora de la enzima 5-lipooxigenasa (Gupta, 1996; Prieto y col., 2002).

Finalmente el estudio de Sosa y col. (2000) de la estructura química de una saponina aislada del extracto acuoso de *X. spinosum* L. hace presuponer una actividad diurética, en tanto que el ácido oleánico aislado del mismo extracto presentó experimentalmente actividad antiinflamatoria (Salinas y col., 2000).

2.1.3.8. Estudios clínicos

Existen muy pocas investigaciones a nivel clínico de *X. spinosum* L. una de ella es la que realizaron Pectu y col. en 1980 donde pusieron a prueba el efecto de los extractos de *X. spinosum* L. en 185 pacientes con adenoma de próstata, prostatitis y litiasis renal, se obtuvieron buenos resultados en el 13,5% de los casos, con disminución de los síntomas y disminución de la poliuria, asimismo, los pacientes con litiasis renal mostraron orina estéril después del tratamiento y no se observó toxicidad incluso en tratamientos que duraron hasta 18 meses.

2.1.4. Familia *Urticáceas*

Esta familia posee muchas especies vegetales de importancia económica en el mundo textil, alimenticio y medicinal. Las especies *Urtica dioica* L. y *Urtica urens* L. tienen especial importancia en el tratamiento de enfermedades humanas tales como la hiperplasia prostática benigna (HPB), la artritis reumatoide, la osteoartritis e infecciones del tracto urinario, sin embargo, pocos estudios han sido realizados para los demás géneros de esta familia (Chrubasik y col., 2007a; Chrubasik y col., 2007b).

La familia *Urticáceas* comprende alrededor de 40 géneros y más de 700 especies, la mayoría de ellas crecen en regiones tropicales y subtropicales del mundo, son generalmente hierbas fibrosas, algunas tienen pelos urticantes en sus tallos y hojas que contienen sustancias irritantes, presentan cistolitos de diversas formas en las células epidérmicas. Sus hojas son alternas u opuestas y generalmente con estípulas. Sus inflorescencias son axiales con brácteas a veces reducidas solo a una flor, sus flores son unisexuales, pequeñas, actinomorfas, las masculinas tienen de cuatro a cinco estambres y las femeninas tienen un solo pistilo unilocular, un ovario con un ovulo y un estigma que a menudo es de cepillo. Su fruto es un aquenio seco, raramente una drupa rodeada por perianto resistente que posee cuatro o cinco segmentos. Sus semillas tienen un solo endosperma y un embrión recto (Lawrence, 1951; Hess y col., 1967).

2.1.5. Género *Urtica*

El género *Urtica* comprende 100 especies distribuidas en las regiones templadas y tropicales a través del mundo. Las especies de este género son en su mayoría hierbas anuales o perennes, solo algunas son arbustos o árboles pequeños. Sus pelos urticantes son rígidos, unicelulares y el ápice lleva una cabeza pequeña esférica u ovoide que se rompe fácilmente con el contacto, liberando de esta manera el fluido celular irritante. Sus hojas son opuestas, dentadas y con estípulas libres. Presentan inflorescencias en espigas axilares falsas, sus flores son unisexuales, pequeñas y verdes, las masculinas poseen cuatro segmentos de perianto iguales y cuatro estambres, las femeninas poseen

cuatro segmentos de perianto en dos pares, la pareja interior es acrescente en el fruto y encierra el aquenio (Ball, 1964; Davis, 1982).

2.1.5.1. Usos medicinales

Los registros de la utilización de ortigas se remontan al menos a la Edad del Bronce (3000-2000) A. C. En la antigüedad se utilizaba una infusión de ortiga para el alivio de la artritis y el lumbago.

Los principales usos medicinales de las ortigas han sido y siguen siendo, como un tónico y alimento, pero también se las usa en el tratamiento de las hemorroides, la anemia, el reumatismo, eczema, asma, en molestias urinarias y estomacales, en infecciones de la piel, y como antihemorrágicas (Gulsel, 2003). Entre las especies más utilizadas tradicionalmente están la *U. dioica* y *U. urens* L., a las que se conoce durante mucho tiempo como plantas medicinales y son empleadas como expectorantes, diuréticas, purgantes, en el tratamiento del eczema, el reumatismo y las hemorroides.

Otra especie de esta familia es la *Urtica echinata* Benth sp., la infusión de sus hojas se usa contra las hemorragias pulmonares, el cocimiento de las mismas para blenorragias, dolores reumáticos y artríticos. Para los dolores de piernas se aplican emplastos calientes de sus hojas con sal. En el Norte de Potosí la infusión de sus hojas se bebe como remedio para las enfermedades eruptivas (Lucca y Zalles, 1992). De la misma manera el cocimiento de las hojas de *Urtica flabellata* Kunth., se emplea en el tratamiento del asma y la pleureía, asimismo, para disolver cálculos en los riñones y vejiga, el mismo cocimiento en fomentos se usa para la gota, calambres, reumatismo y en resfriados como expectorante (Lucca y Zalles, 1992).

Finalmente, *Urtica maguellanica* se emplea en la Provincia Nor Chichas (Potosí Bolivia) en forma de cocimientos contra los flujos y hemorragias uterinas (Lucca y Zalles, 1992).

2.1.5.2. Métodos de preparación tradicional de los remedios, de las especies vegetales del género *Urtica*

Las especies de este género se emplean generalmente como diuréticas, antiinflamatorias y en afecciones reumáticas. Su raíz se utiliza en caso de alteraciones urinarias relacionadas con la hiperplasia benigna de próstata aumentando el volumen y el flujo urinario. Sus frutos se emplean triturados y aplicados en forma de cataplasma para tratar problemas dermatológicos y afecciones reumáticas (Blumental y col., 1998; Pérez, 1996; Fitoterapia.net, 2007).

Las siguientes preparaciones tradicionales fueron extraídas del libro “Las plantas curativas” en ellas se detallan los métodos de preparación tradicional de las especies del género *Urtica* (Itzik, 2006).

Infusión general: verter 20g de hojas y flores en un litro de agua hirviendo. Filtrar y beber durante el día.

Infusión contra la artritis: hervir una taza con agua y luego incorporar tres cucharaditas de hojas de ortiga dejar reposar durante cinco minutos, filtrar y endulzar con miel. Beber tres tazas diarias. Esta infusión se emplea también contra la rinitis alérgica (alergia respiratoria al polen o al polvo).

Decocción depurativa y diurética: hervir 50 g de hojas y tallos de ortiga en un litro y medio de agua hasta que se reduzca a un litro, filtrar y guardar en una botella de vidrio, tomar dos o tres copitas por día. Decocción contra la gota: hervir 80g de hojas de ortiga en dos litros de agua, dejar enfriar y filtrar, beber cuatro tazas diarias.

Jarabe para hemorroides: limpiar bien 3 kg de hojas frescas y tiernas de ortiga, colocarlas en una olla sin agua y calentarlas al fuego durante un minuto, dejar enfriar y revolverlas un poco, ponerlas en una servilleta fina y retorcerlas para extraerles todo el jugo, mezclar el jugo con una cantidad igual de miel y guardar en un recipiente de vidrio y tomar el jarabe en copitas.

Tintura para hemorragias intestinales: mezclar 40 g de jugo de hojas de ortiga con alcohol a 40°, dejar macerar durante cinco días y conservar la tintura en un frasco con cuentagotas, tomar 20 gotas diarias diluidas en agua hasta que se haya curado la afección, esta tintura puede usarse también en caso de menstruaciones excesivas.

Para la inflamación de próstata se hierve un puñado de raíces secas en una taza con agua durante cinco minutos, filtrar y beber una taza diaria, sola o endulzada con miel.

Para la caspa y la caída del cabello hervir 200 g de raíces de ortiga en medio litro de vinagre de vino, dejar enfriar y filtrar, frotar el cuero cabelludo por la noche antes de acostarse, en la mañana, lavar el cabello con champú, enjuagar y frotar con aceite de oliva.

2.1.5.3. Fitoquímica del género *Urtica*

La característica más relevante de las ortigas es poseer pelos urticantes, según varios estudios (Wagner y col., 1994; Collier y col., 1956; Emmelin y col., 1949) estos pelos contienen en su composición histamina, ácido fórmico, acetilcolina, ácido acético, ácido butírico, leucotrienos, 5- hidroxitriptamina y otros irritantes. Feng y col. (2011) aislaron glicósidos de las raíces de *Urtica fissa* {3,4-trans-4-[bis (3,4-dimetoxifenil) metil]-2-oxotetrahidrafuran-3-il} metil-O-β-glucopiranosido estas estructuras fueron identificadas por métodos espectrales. También se aislaron de las raíces de *Urtica triangularis* dos glicósidos secolignananos urticaside A y urticaside B (Feng y col., 2010).

Según el estudio realizado por Aishan y col., (2010) en el Noreste de China, en *Urtica cannabina* fueron identificados cinco flavonoides isovitexina, isoquercitrina, astragalina, afzelin y quercitrina. Chaturvedi, (2001) identifico el flavonoide 5, 2', 4' trihidroxi 7, 8 dimetoxi flavona en *U. dioica*.

Pinelli y col. (2008) estudiaron la composición fenólica de hojas, tallos y extractos de fibras textiles de *U. dioica* L. e identificaron grandes cantidades de ácido clorogénico y 2-O-cafeoilmalico.

Süleyman y col. (2012) identificaron en el aceite esencial de *U. dioica* 43 compuestos que representan el 95.8% del aceite. Entre los principales componentes del aceite se encontraron el carvacrol, carvona, naftaleno, E-anetol, hexahydrofarnesyl acetona, E-geranil, E- β -ionona y fitol.

Diez nuevos lignanos fueron aislados de *Urtica triangularis* y *Urtica laetevirens* (Yan y col., 2008; Zhou y col., 2009). De las raíces de *U. dioica* se aisló el lignano (-) -3,4-divanillyltetrahydrofuran (Schottner y col., 1997; Hryb y col., 1995).

Berges y col. (1995) reportaron la presencia de β -sitosterol en pequeñas cantidades en la raíz de *U. dioica*. Aishan y col. (2010) aislaron de *Urtica cannabina* dos megastigmanes blumenol A y dehydrovomifoliol.

Finalmente, tres polisacáridos fueron aislados de *Urtica fissa*, y se componen principalmente de residuos de D-glucopiranosil de diferentes características estructurales (Li Y y col., 2009).

2.1.5.4. Actividad Farmacológica

La investigación realizada sobre las propiedades medicinales de las especies del género *Urtica* ha sido reportada por muchos autores, principalmente se han investigado sus propiedades antiinflamatorias y su actividad farmacológica contra la hiperplasia benigna de próstata.

Marrassini y col. (2011) evaluaron la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de la parte aérea de *Urtica circularis* mediante el modelo de edema plantar inducido por carragenina en ratas a dosis de 300 mg/kg administrados vía intraperitoneal, este extracto inhibió el edema en un 41,5%, del mismo extracto se aisló un flavonoide glicosídico Vicenin II. Asimismo, el compuesto patuletin aislado de *U. urens* administrado por vía oral en una dosis de 10 mg/kg redujo significativamente el edema inducido por carragenina en el mismo rango que una dosis equivalente de diclofenaco, esta reducción fue aún más pronunciada que la presentada por el diclofenaco (Saeed y col., 1995).

Mengyue y col. (2011) estudiaron la actividad antiartrítica en ratones y ratas del extracto etanólico de la parte aérea de *Urtica atrichocaulis* administrado, mediante la inducción de la artritis con el Adyuvante completo de Freund (FCA), el extracto inhibió la artritis.

Gorzalczany y col. (2011) evaluaron la actividad antinociceptiva del extracto etanólico y los compuestos aislados de *Urtica circularis* mediante el modelo de contorciones inducidas por ácido acético, el modelo de la formalina y el modelo en placa caliente en ratones, el extracto etanólico produjo una inhibición significativa en la nocicepción inducida por ácido acético. De los compuestos aislados vitexina fue la más activa, así también el ácido clorogénico, ácido caféico y vicenin produjeron una inhibición significativa. Igualmente Ilhami y col. (2004) evaluaron la actividad antinociceptiva por el método de inducción de contorciones por ácido acético en ratones a los que se les administro 25, 50 y 100 mg/kg de extracto acuoso de *U. dioica* alcanzando una inhibición máxima de 89.2% con la dosis más alta.

Yener y col. (2009) investigaron las propiedades hepatoprotectoras y antioxidantes del extracto de aceite de las semillas de *U. dioica*, contra la exposición a aflatoxinas mediante la evaluación de los cambios histopatológicos en el hígado en ratas. La administración del extracto restaura el desequilibrio entre el MDA (malondialdehído) y el sistema antioxidante, comportándose como un hepatoprotector.

Por otra parte, Zhang y col. (2008) evaluaron el efecto de una fracción de polisacáridos extraídos de los tallos y raíz de *Urtica fissa*, sobre la hiperplasia prostática en modelos animales. Los resultados mostraron que la fracción de polisacárido crudo tuvo actividad significativa a una dosis de 62,5, 125, 250 mg/kg de peso corporal por vía oral, el estudio histopatológico mostró que se inhibió la proliferación de las células epiteliales prostáticas y tejidos fibróticos.

Golalipour y col., (2007) determinaron la actividad protectora del extracto hidroalcohólico de *U. dioica* a una dosis de 100 mg/ kg/día sobre las células beta en ratas hiperglucémicas, los animales recibieron el tratamiento por vía intraperitoneal y al final de la quinta semana fueron sacrificados, se les extrajo el páncreas para el conteo de

las células beta, además se midieron los parámetros glicémicos. El porcentaje de las células beta en el grupo de tratamiento en comparación con el grupo no tratado fue significativamente diferente. En otra investigación, Jahanshahi y col. (2009) evaluaron el número de astrocitos en el giro dentado de la formación hipocampal de ratas diabéticas después del tratamiento con un extracto hidroalcohólico de *U. dioica* a una dosis de 100mg/kg/día durante cuatro semanas por vía intraperitoneal, después de un período de cinco semanas todos los animales fueron sacrificados y se tomaron secciones coronales de la formación del hipocampo dorsal de los hemisferios cerebrales derecho, el número de astrocitos aumentó en las ratas diabéticas en comparación con los controles.

Bnouham y col. (2003) estudiaron la actividad antihiperlipidémica del extracto acuoso de *U. dioica* en ratas, a una dosis de 250 mg/kg, el extracto mostró un fuerte efecto reductor de la glicemia, cuando se administró 30 minutos antes de la carga de glucosa, efecto que persistió durante 3 horas, los resultados indican que la ortiga tiene un efecto hipoglicemiante significativo en el modelo de SOG (sobrecarga oral de glucosa). Este efecto puede ser causado en parte por la reducción de la absorción intestinal de glucosa.

Farmazi y col. (2003) realizaron una investigación sobre el probable mecanismo de acción de las fracciones de extractos de *U. dioica* en la inducción de secreción de insulina, para ello fueron expuestos un número exacto de islotes de Langerhans a varias fracciones de los extractos de *Urtica*, la fracción de ingrediente activo causó un marcado aumento en la secreción de insulina. Un ensayo simultáneo con glucosa mostró que el aumento en el nivel de insulina se asoció con una disminución en el nivel de glucosa. Kavalali y col. (2003) investigaron la actividad hipoglicemiante de la lecitina aislada de las semillas de *Urtica pilulifera* en ratas, a una dosis 100mg/kg vía intraperitoneal, se evidenció un efecto hipoglicémico significativo ($p < 0.05$).

Ozen y col. (2010) realizaron el estudio del efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, semillas y raíz de *Urtica pilulifera*, la actividad antioxidante se midió por diferentes métodos y se observó la correlación entre la actividad antioxidante más alta y la cantidad de fenoles totales. Ilhami y col. (2004)

estudiaron el extracto acuoso de la parte aérea de *U. dioica* por sus propiedades antioxidantes, este extracto tuvo una poderosa actividad antioxidante, dosis de 50, 100 y 250 µg del extracto mostraron 39, 66 y 98% de inhibición respectivamente.

Según el estudio realizado por Kanter y col. (2005) el aceite de semillas de *U. dioica* en una dosis de 2mL/kg ha demostrado aumentar la actividad del sistema de defensa antioxidante en las ratas tratadas con CCl₄.

Marjan y col. (2009) estudiaron el efecto hipocolesterémico del extracto etanólico de las hojas de *U. dioica* en ratas, a concentraciones de 100 y 300 mg/kg, estos extractos probaron reducir significativamente los niveles de colesterol, disminuir las lipoproteínas de alta densidad (LCD), también disminuyó notablemente la concentración de enzimas del hígado y el peso en los animales con una dieta alta en colesterol.

Hizlan y col. (2009) indican que el extracto hexánico de semillas de *U. urens* puede tener el potencial para inhibir y/o inducir el metabolismo de ciertos fármacos administrados conjuntamente, teniendo actividad como un quimioprotector.

Zeynep y col. (2011) investigaron el efecto del aceite de las semillas de *U. dioica* en el tratamiento de la colitis inducida por la administración intracolónica de trinitrobenceno sulfónico en ratas a una dosis de 2,5 mL/kg, según las lesiones macroscópicas, el examen histológico y citológico, además del estudio sanguíneo se evidenció que el extracto de semillas de *U. dioica* disminuyó los niveles de citoquinas proinflamatorias, lactato deshidrogenasa, triglicéridos y colesterol.

Ghafari y col. (2011) realizaron un estudio histopatológico y morfométrico para determinar el efecto que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *U. dioica* deja en testículos de ratas diabéticas, a las que se les administró 100 mg/kg/día del extracto durante 28 días, después de cinco semanas de estudio, todas las ratas se sacrificaron y sus testículos fueron retirados para su observación y comparación con los controles, este estudio mostró que el extracto no tiene ningún efecto o alteración en los túbulos seminíferos de las ratas diabéticas.

Ozkol y col. (2011) investigaron la actividad hepatoprotectora, nefroprotectora y antioxidante del extracto metanólico de *U. dioica* contra la toxicidad inducida por cisplatino (CP) agente citotóxico utilizado contra el cáncer en ratones portadores de Erhlich tumor ascítico (EAT), después de seis días de la administración del extracto a dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg, casi todas las dosis mostraron una disminución significativa del daño citotóxico.

Golalipour y col. (2010) evaluaron el efecto protector del extracto hidroalcohólico de hojas de *U. dioica* sobre los cambios cuantitativos morfológicos en el hígado de ratas diabéticas, el extracto evaluado a una dosis de 100 mg/kg administrado intraperitonealmente durante cinco semanas evidenció que el diámetro medio de los núcleos de los hepatocitos en el grupo tratamiento fue menor que en el grupo no tratado y el grupo control, este estudio reveló que la administración del extracto de *U. dioica* tiene un efecto protector sobre las alteraciones en las zonas periportal y perivenosas del lóbulo del hígado en ratas.

Hou y col. (2010) aislaron del extracto de acetato de etilo de *Urtica dentata* el compuesto biscoumarin (6,6', 7,7'-tetrametoxil-8,8'-biscoumarin), junto con otros cinco compuestos 7,7'-dihidroxi-6,6'-dimetoxi-8,8'-biscoumarin, 7,7'-dimetoxi-6,6'-biscoumarin, escoparona, ácido vanílico, daucosterol, los primeros cuatro compuestos mostraron una potente actividad inmunosupresora según la determinación del ensayo de recuento celular para la proliferación de linfocitos.

Szentmihalyi y col. (1998) concluyeron que la alta proporción de potasio en las ortigas puede explicar el efecto diurético.

El extracto acuoso de la parte aérea de *U. dioica* presentó buena actividad antimicrobiana frente a nueve de diez diferentes microorganismos (*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027, Gram-negative), *Escherichia coli* (ATCC 9837, Gram-negative), *Proteus mirabilis* (Clinical isolate, Gram negative), *Citrobacter koseri* (Clinical isolate, Gram-negative), *Enterobacter aerogenes* (Clinical isolate, Gram-negative), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, Gram-positive), *Streptococcus*

pneumoniae (ATCC 49619, Gram-positivo), *Micrococcus luteus* (Clinical isolate, Grampositivo), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate, Gram-positivo), y *Candida albicans* (ATCC 10231)), en comparación con los antimicrobianos estándar tales como el nitrato de miconazol, el ácido clavulánico, ofloxacina y netilmicina (Ilhami y col., 2004).

La Comisión E de Alemania aprueba el uso de la hoja de ortiga como terapia de apoyo en pacientes con infecciones del tracto urinario y para prevenir y tratar una infección grave. (Blumenthal y col., 1998).

2.1.5.5. Consideraciones Toxicológicas

Süleyman y col., (2012) evaluaron los efectos citotóxicos y genotóxicos del aceite esencial de *U. dioica* en pruebas como el ensayo de micronúcleos y el ensayo de aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos, estos estudios muestran que existe una correlación significativa entre la concentración de aceite esencial aplicado y aberraciones cromosómicas, la frecuencia de micronúcleos, apoptosis, células necróticas y células binucleadas.

Los flavonoides de ortiga así como sus agliconas demostraron no ser mutagénicas, pero también demostraron no ser completamente seguras (Basaran y col., 1996).

2.1.5.6. Estudios clínicos

En el estudio realizado por Alain y col. (2009) se evaluaron los efectos de un suplemento alimenticio Phytalgic que lleva en su composición general aceite de pescado, vitamina E y *U. dioica*, se trataron dos grupos de pacientes con osteoartritis durante tres meses, 41 pacientes para el grupo tratamiento y 40 pacientes en el grupo placebo, después de los tres meses la media de utilización de analgésicos antiinflamatorios del grupo tratamiento frente al grupo placebo fue significativamente diferente ($p < 0.0001$), entonces el suplemento pareció disminuir la necesidad de analgésicos y mejorar los síntomas de la osteoartritis.

Se estudiaron los efectos del extracto hidroalcohólico de la *U. dioica* en el estrés oxidativo en la diabetes tipo dos, se evaluaron cincuenta pacientes con diabetes tipo dos (27 varones, 23 mujeres) durante ocho semanas a una dosis de 100mg de extracto hidroalcohólico por kg de peso corporal, después de las ocho semanas la capacidad antioxidante total (CAT) y superóxido mostraron un incremento significativo en el grupo tratamiento frente al grupo control ($p < 0.05$) (Namazi y col., 2012).

Se propuso en los últimos años una asociación de tres especies vegetales *Serenoa repens* (320mg), *U. dioica* (5mg) y *Pinus pinaster* (5mg) para el tratamiento y prevención del desarrollo de cáncer de próstata, durante un periodo mínimo de 30 días y máximo de un año, este tratamiento se administró a 320 pacientes de entre 19 y 78 años, ya sea solo o en asociación con antibióticos α -bloqueantes, por los resultados obtenidos el tratamiento fue bien tolerado, no hubo cambios en el caudal y el volumen de la próstata, también hubo una marcada reducción de los síntomas en el tracto urinario del 85% de los pacientes evaluados, especialmente con el dolor y los síntomas irritativos (Pavone y col., 2010). Similares estudios para el tratamiento de la hiperplasia prostática fueron realizados con *U. dioica* con la disminución significativa en las alteraciones asociadas con esta afección (Safarinejad, 2005; Scheneider y Rubben, 2004).

Otro estudio a doble ciego indica que entre las aplicaciones tópicas de *U. dioica* y *Lamium* especie que evolucionó parecida a la *Urtica*, mostró que solo *Urtica* se asoció con el alivio de los síntomas de la artritis (Randall y col., 2000).

Se indicó que los efectos antiinflamatorios de *U. dioica* pueden ser útiles en enfermedades alérgicas de todo tipo. Según un estudio realizado a 69 pacientes con rinitis alérgica, tratados con 600 mg del extracto liofilizado de esta especie, el 58% de los pacientes presentaron un alivio eficaz de los síntomas (Mittman y col., 1990).

2.1.6. *Urtica urens* L.

2.1.6.1. Clasificación botánica

Reino : Vegetal

División : Angiospermas
Clase : Dicotyledoneae
Subclase : Archlamydeases
Orden : Urticales
Familia : *Urticáceae*
Género : *Urtica*
Especie : *Urtica urens* (Mostacero, 1998).

Nombres comunes: Atapilla negra

Pica pica

Ortiga negra

Punchi

Ortiga ardiente

Chura, Itapallu, Yana kisa (Quechua)

Cachunquisa yuyo (Aymara) (Zalles y De

Lucca, 1991).

Esta especie forma parte de la colección del Herbario Nacional de Bolivia, su distribución en Bolivia es variable ya que nos encontramos con ejemplares provenientes de diferentes regiones de La Paz, Cochabamba y Santa Cruz.

2.1.6.2. Descripción botánica

U. urens L. (Urticáceas) es una especie vegetal ampliamente distribuida en América del Sur (Bolivia, Brasil, Chile, Uruguay y Argentina), Europa, África, Asia y Australia. Es una especie anual, crece de 10-50 cm de alto (Burkart, 1987) que se encuentra en diferentes tipos de terreno (desierto, bordes de camino, riberas de los ríos, etc) (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

Es una planta vivaz, sin látex con tallos estriados suculentos provistos de pelos urticantes delgados y unicelulares esparcidos en ambas caras. La acción urticante se debe al líquido contenido en los pelos que se libera al romperlos. Presenta hojas simples pecioladas, opuestas acerradas de color verde oscuro, con cistolitos redondos. Sus flores se encuentran dispuestas en largos racimos ramificados insertados en las axilas de las hojas, son menudas con leve pubescencia en el ápice, numerosas reunidas en glomérulos sésiles. Presenta el aquenio ovoide levemente rugoso con estigma caduco y la semilla con embrión recto y endosperma oleoso (Bruneton, 1999; Torrico, 1994; Zalles y De Lucca, 1991).



Figura 4. Gráfico de hojas, flores, fruto, semilla y la planta entera de *Urtica urens* L.

2.1.6.3. Partes utilizadas

Se utilizan sus hojas, tallos, flores, semillas y la raíz, todas estas partes de manera diferente.

2.1.6.4. Propiedades y usos

Las hojas de *U. urens* se utilizan para uso interno como diurético y externamente como rubefaciente. Sus hojas también se emplean para aumentar la diuresis, especialmente para la litiasis, en caso de enfermedades inflamatorias como las enfermedades reumáticas. Sus raíces se utilizan en caso de alteraciones urinarias relacionadas con

hiperplasia benigna de próstata. Sus frutos se emplean triturados y aplicados en forma de cataplasma para tratar problemas dermatológicos y afecciones reumáticas (Perez, 1996; Blumenthal M, 1998; Fitoterapia. Net, 2007). En la siguiente tabla se resumen las propiedades y usos de *U.urens* L. descritas por Giraoult, (1987).

Tabla 1. Propiedades y usos de la especie vegetal *Urtica urens*

Actividad	Parte utilizada	Forma de administración
Antiinflamatorio	Hojas y tallos	Decocción-cataplasma
Antiartrítico	Hojas y tallos	Infusión
Antihemorroides	Hojas	Extracto e infusión
Antigotoso	Hojas y tallos	Infusión
Antiespasmódico	Hojas y tallos	Molido y en emplasto
Alergias	Hojas y tallos	Infusión
Anticaspa	Semillas	Infusión
Diurético	Raíz fresca	Infusión y extracto
Depurativo	Hojas frescas	Extracto y decocción
Enteritis	Hojas y tallos	Infusión
Vasoconstricción	Hojas	Baños con cocimiento
Rubefaciente	Hojas frescas	Extracto o decocción

2.1.6.5. Compuestos identificados

Los pelos de las hojas de *U. urens* L. contienen acetil-colina, histamina, serotonina y leucotrienos, también sales minerales hasta un 18% entre ellas hierro, calcio, sílice, potasio y manganeso.

Contiene compuestos fenólicos como escopoletina, ácidos caféico, ácido clorogénico, betaina, colina lecitina fitoesterinas, serotonina y vitaminas A, B y C. (Kavtaradze, 2003; Mossad y col., 2005), también compuestos flavónicos como el kempferol, quercetina e isramnetina y se encuentran sus heterósidos, rutinósido del kanferol y quercetina además del glucósido de isoramnetina (ESCOP, 2003).

Según Soshnikova y col. (2004); Yatsuk y col. (2005), se encontro en las raíces de *U. urens* ácido aspártico, serina y alanina.

La composición de una fracción lipofílica de *U. urens* L. estudiada por Lapinskaya y Kopyt'ko (2008) reporto la presencia de vainillina, ácido palmítico, ácido linoléico, ácido linolénico, escualeno, β -sitosterol, β -tocoferol, y etil ester de ácido palmítico. Otros constituyentes presentes en esta especie vegetal son el ácido 13-hidroxiotadecanotrieno, la escopoletina, sitosterol y su glucósido, además de una proporción elevada de clorofilas A y B.

2.1.6.6. Estudios de toxicidad

Se realizó un estudio de toxicidad a diferentes dosis en una única administración 1000, 3000 y 5000 mg/Kg de extracto crudo a 22 ratones (11 hembras y 11 machos) obteniéndose como resultado un 100% de sobrevivencia, según el test hipocrático se pudo observar hipersensibilidad al tacto, vasodilatación periférica, aumento de la actividad motriz, prurito en extremidades inferiores, excreción de mucosa en heces (Herrera y col., 2008).

2.1.6.7. Estudios farmacológicos pre clínicos

Según la revisión bibliográfica *U. urens* reportó tener actividad antiinflamatoria, hepatoprotectora, diurética y quimiopreventiva.

Marrassini y col., (2010) evaluaron las actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del extracto etanólico de la parte aérea de *U. urens* L., mediante modelos animales experimentales, se encontró que *U. urens* posee actividad antiinflamatoria y antinociceptiva a una dosis de 500 mg/kg administrados por vía oral alcanzando una

inhibición de 62,8%. La actividad antiinflamatoria mediante el modelo de edema plantar inducido por carragenina en ratas mostró una inhibición de 41,5% a una dosis de 300 mg/kg administrados intraperitonealmente.

Otras actividades farmacológicas

Se realizó el estudio del efecto hepatoprotector del extracto de semillas de *U. urens* en la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en ratas. El tratamiento de ratas con *U. urens* provocó un aumento de las enzimas hepáticas antioxidantes sin cambiar los niveles de LDH (deshidrogenasa láctica sérica), ALT (alanina aminotransferasa) y AST (aspartato aminotransferasa) (Alaattin, 2007).

Ozkarsli y col. (2008) estudiaron el potencial quimiopreventivo de la administración intraperitoneal de un extracto hexánico de semillas de *U. urens*, se encontró que este extracto inhibe ampliamente la expresión de la enzima del citocromo P450, CYP1A, a nivel enzimático en el hígado, pulmón y riñón.

El extracto de las hojas de *U. urens* mostró actividad diurética en ratas y ratones, además de presentar efectos favorables en el tratamiento de alteraciones urinarias relacionadas con la hiperplasia prostática (Vanaclocha y col., 2003).

2.1.6.8. Estudios clínicos

Según la revisión bibliográfica *U. dioica* y *U. urens* cuentan con varios estudios clínicos para el adenoma humano de próstata, descritos en la Farmacopea Alemana (1993) y la Farmacopea Británica (2006), en estos estudios se utilizan extractos e infusiones de las raíces de las dos especies.

2.2. Inflamación

Una reacción inflamatoria representa un conjunto de reacciones locales y generales del organismo contra una agresión, se compone de una serie de fenómenos complejos que se asocian o se complementan unos con otros formando una reacción en cascada, estos fenómenos pueden ser desencadenados por varios estímulos, entre los que se incluyen factores endógenos (necrosis tisular o rotura ósea) o factores exógenos como lesiones

por agentes mecánicos (corte), físicos (quemaduras, radiaciones, frío, calor), químicos (corrosivos, venenos, toxinas), biológicos (bacterias, virus, parásitos, hongos) e inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad) (Feria, 2004).

La respuesta inflamatoria a estos estímulos tiene como objetivo combatir al agente agresor o eliminar productos resultantes de la destrucción celular, promoviendo condiciones ideales para la reparación del tejido lesionado. El resultado principal de un proceso inflamatorio agudo es la resolución con éxito del daño tisular (Serhan y Savill, 2005). Los principales cambios que se presentan para restablecer las condiciones de los tejidos dañados implican básicamente tres procesos:

- a) Cambio del calibre y flujo en la microcirculación.
- b) Aumento de la permeabilidad vascular que lleva a la formación de un exudado rico en proteínas.
- c) Migración de leucocitos de la sangre hacia el sitio del daño, estos leucocitos tienen una función crucial en la lucha contra el estímulo lesivo, no solamente debido a la función fagocitaria sino por la liberación de mediadores químicos. Ahora también se conoce que el sistema nervioso y factores endócrinos interfieren en la reacción inflamatoria aguda (Valle y col., 1985).

Se producen diferentes sucesos como la activación del sistema macrofágico y en pocas horas los macrófagos comienzan a fagocitar los tejidos destruidos (Guyton, 2006). Otras sustancias endógenas como los autocoides, también están implicadas en la respuesta inflamatoria, se forman a partir de ácidos grasos poli-insaturados de veinte átomos de carbono, principalmente el ácido araquidónico, y agrupan: prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PGI₂), leucotrienos (LTs), tromboxanos (TXs) y los fosfolípidos modificados, representados por el factor activador de plaquetas (FAP) (Campbell y Halushka, 1996).

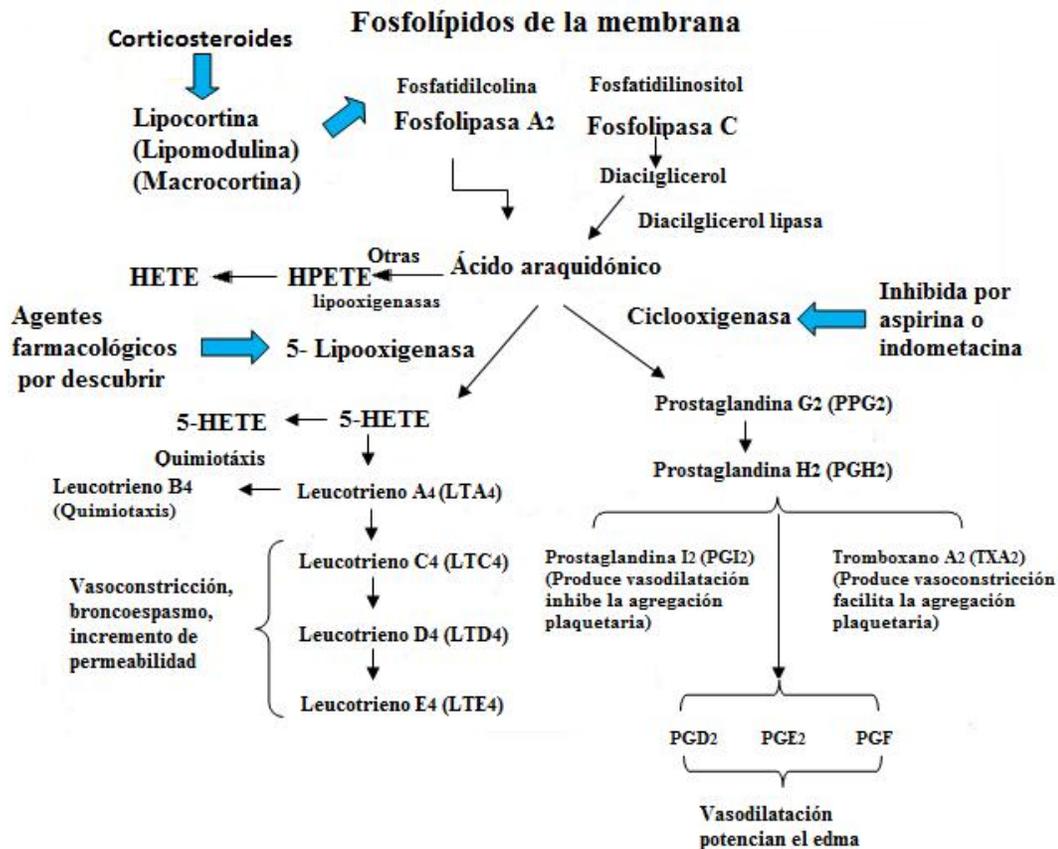


Figura 5. Generación de metabolitos del ácido araquidónico y sus funciones en la inflamación (Cotran y col., 2000)

En la zona de la lesión, diversos factores favorecen la actividad leucocitaria como las sustancias quimiotácticas en concentraciones elevadas, la fagocitosis y complejos antígeno-anticuerpo. La activación leucocitaria se caracteriza por la producción de metabolitos del ácido araquidónico que esterifica a los fosfolípidos de las membranas celulares y a otros lípidos complejos. Las hormonas y otras sustancias aumentan la biosíntesis de los eicosanoides interactuando probablemente con receptores ligados a la membrana plasmática, que están acoplados a proteínas reguladoras ligadas al GTP (proteína P). Algunos estímulos físicos parecen causar un flujo de calcio alterando la membrana celular y de esta forma, activando la fosfolipasa A₂, con posterior liberación de ácido araquidónico donde una parte es metabolizada rápidamente vía

ciclooxigenasas, lipooxigenasas o citocromo P-450. La ciclooxigenasa (COX) posee dos isoformas: COX-1 y COX-2. La COX-1 se expresa constitutivamente por la mayoría de las células, mientras que la COX-2 no es encontrada en condiciones normales sino que puede ser inducida por algunos factores séricos: citocinas y factores del crecimiento. Algunos autores describen la existencia de una tercera isoforma, COX-3, la cual no parece estar involucrada en procesos inflamatorios (Esplugues y Barrachina, 2004).

La PGE_2 y la PGI_2 aumentan la formación del edema y la filtración leucocitaria, además potencian la actividad algésica de la bradicinina y de otros autocoides. La acción de las PGs es consecuencia de su interacción con diversos receptores específicos localizados en las membranas celulares y asociados a proteínas G (Coleman y col., 1994).

La 5-lipooxigenasa posibilita la síntesis de los leucotrienos, particularmente el leucotrieno (LTB₄) que ejerce una poderosa acción quimiotáctica que favorece la concentración de neutrófilos, su degranulación, agregación y adherencia a las paredes postcapilares y produce además hiperalgesia. Los LTB₄, LTC₄ y LTE₄ aumentan la permeabilidad vascular y la exudación plasmática. Los receptores de los leucotrienos admiten un receptor común LTD₄/LTE₄, su activación estimula la fosfolipasa C modulando la producción de inositolfosfato con la movilización de Ca^{2+} y la génesis de metabolitos del ácido araquidónico con funciones de segundos mensajeros intracelulares (Esplugues y Barrachina, 2004).

En presencia de inflamación disminuye el umbral de activación de las vías aferentes, esto aumenta la sensibilidad al dolor, esta sensibilidad a nivel periférico desencadena un aumento de las PGE_2 , a nivel central genera hiperalgesia mediante un aumento de la liberación de neurotransmisores excitatorios.

Los nociceptores poseen receptores para muchas de estas moléculas modificando la actividad de las neuronas primarias, activándolas directamente o disminuyendo su umbral de respuesta (sensibilización periférica). Los cambios ocurridos en la actividad de las neuronas primarias, sumado a modificaciones en su perfil bioquímico dan inicio a una serie de cambios en las sinapsis espinales, generando una hiperexcitabilidad de las

neuronas del asta dorsal (sensibilización central) lo cual contribuye en muchos casos a la persistencia del dolor en procesos inflamatorios (García y col., 2001).

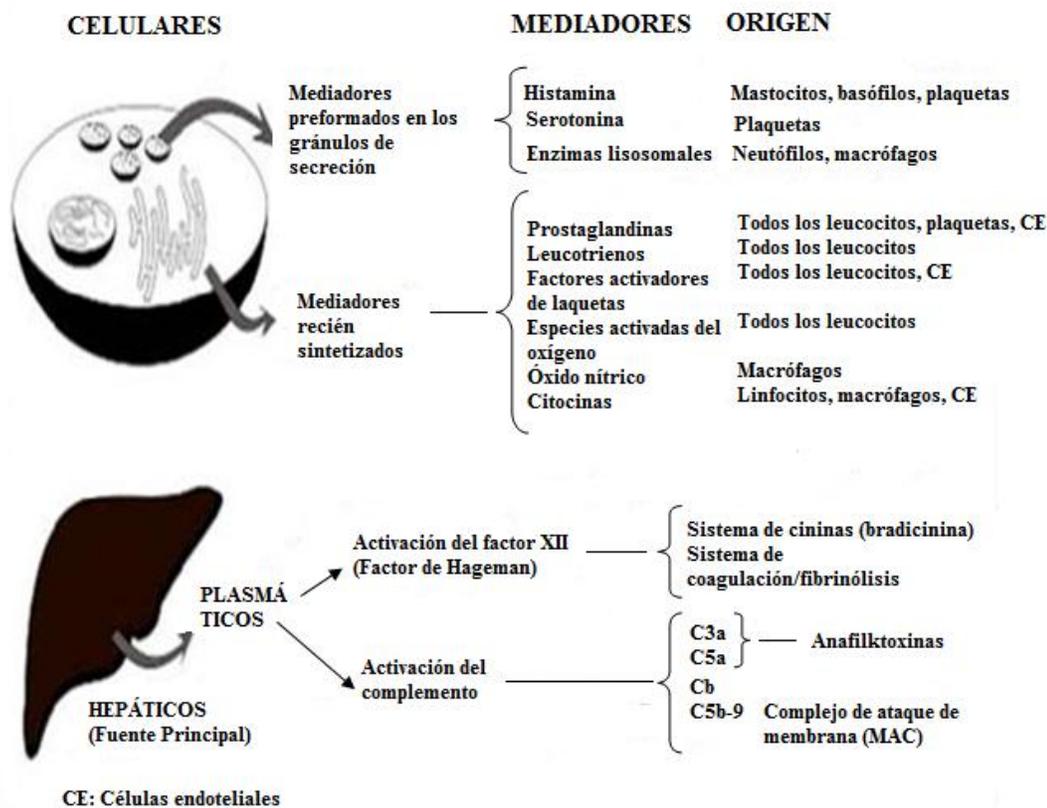


Figura 6. Mediadores químicos de la inflamación (Cotran y col., 2000)

2.3. Antiinflamatorios

Los fármacos antiinflamatorios se clasifican de acuerdo a su estructura química en dos grupos: antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y antiinflamatorios esteroideos.

2.3.1. Antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos comparten tres acciones farmacológicas la analgesia, acción antitérmica y antiinflamatoria.

2.3.1.1. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos

El mecanismo de acción de los AINEs clásicos consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) de manera que impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el cual se encuentra esterificado a los fosfolípidos de membrana (Warner T y Mitchell J, 2004).

Existen dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2. La primera se expresa en la mayoría de los tejidos en forma fisiológica o constitutiva (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (PG) con función protectora de la mucosa gástrica (citoprotectoras), que regulan la función renal y la actividad plaquetaria. La COX-2 (principal isoenzima asociada a la inflamación) se expresa en forma constitutiva en el sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor. La COX-2 se induce por estímulos inflamatorios, producidos por macrófagos, monocitos y células endoteliales, donde se generan prostaglandinas que median el dolor y la inflamación. Estas PG probablemente juegan un papel en el riñón, cerebro, fisiología de la reproducción, desarrollo del embrión y reparación de los tejidos. La principal ventaja de los fármacos que actúan selectivamente inhibiendo COX-2 es que, consiguiendo la misma eficacia antiinflamatoria, se reducen los efectos secundarios derivados de bloquear la COX-1 (Warner T y Mitchell J, 2004).

La mayor parte de los AINEs son ácidos orgánicos que inhiben de forma competitiva y reversible la actividad de la ciclooxigenasa, además cada molécula puede tener ciertas acciones farmacológicas diferenciales que potencien su utilización como antiinflamatorios, tal como interferir la activación de neutrófilos, producción de aniones superóxido, inhibición de moléculas de adhesión, etc, o como analgésicos. También debe considerarse la posibilidad de efectos en el SNC, modulando la síntesis de glutamato, la transducción del receptor NMDA, síntesis de sustancia P, entre otras (Fürst, 1999).

2.3.1.2. Indometacina

La indometacina es uno de los más potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, su acción analgésica independiente de su acción antiinflamatoria se ejerce a niveles central y periférico. Por vía oral se absorbe de forma rápida ($t_{máx} < 2$ horas) y casi completa (90% en 4 horas por vía oral). Se une a proteínas plasmáticas (90%) y tisulares. Es metabolizada por O-desmetilación (50%), N-desacilación y glucuroconjugación (10%). El 10 a 20 % se elimina sin metabolizar por secreción tubular activa. Su semivida es muy variable (1-6 horas) (Floréz, 1997).

2.3.1.3. Reacciones adversas

El principal motivo de los efectos secundarios del tratamiento farmacológico con AINEs es el altísimo consumo y el tiempo prolongado que se hace de ellos, estos efectos varían de acuerdo al fármaco utilizado. Son frecuentes los efectos de los AINEs a nivel gastrointestinal (pirosis, dispepsia, gastritis, dolor gástrico, diarrea, estreñimiento), pero principalmente el daño a la mucosa gástrica y duodenal provocando erosiones y úlceras. A nivel hepático la elevación de las enzimas hepáticas. A nivel renal, se puede presentar reducción de la función renal, una retención de agua, sodio y potasio o una toxicidad renal crónica con alteraciones del riñón por el consumo prolongado y constante de AINEs. También se pueden presentar fenómenos de hipersensibilidad (rinitis alérgica, edema angioneurótico, erupciones maculopapulares, urticaria generalizada, asma bronquial, hipotensión o shock anafiláctico) aparecen en el 1-2% de los pacientes bajo tratamiento con AINEs (Floréz, 1997).

2.3.2. Antiinflamatorios esteroideos. Glucocorticoides

Los glucocorticoides ejercen acciones antiinflamatorias potentes que los hacen útiles en distintas enfermedades. Los pronunciados efectos inhibitorios generalizados que producen los glucocorticoides sobre las respuestas inflamatorias se deben a la capacidad que tienen de alterar la actividad de ciertos genes “reactivos a los corticoides”.

2.3.2.1 Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroideos

Los corticoides impiden la formación de ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de membrana, al inducir la síntesis del polipéptido llamado lipocortina. La lipocortina inhibe a la fosfolipasa A₂, la enzima que es responsable, normalmente, de movilizar el ácido araquidónico desde los fosfolípidos de las membranas celulares, y por ello inhibe la subsiguiente formación tanto de prostaglandinas como de leucotrienos. Como resultado de la acción de los glucocorticoides también disminuyen los linfocitos inmunocompetentes circulantes y la actividad de neutrófilos y macrófagos, disminuye la actividad de los macrófagos y fibroblastos que están implicados en las fases crónicas de la inflamación, lo que da lugar a una disminución de la inflamación y de la capacidad de cicatrización (Taylor y Reide, 2001).

2.3.2.2. Dexametasona

La dexametasona es un corticoide fluorado de larga duración que inhibe las prostaglandinas y leucotrienos. Sus efectos se mantienen hasta 72 horas, los niveles séricos máximos se alcanzan antes de una hora, se une a proteínas plasmáticas en un 70%, se metaboliza en el hígado (hidroxilación) y se elimina por la orina (Giménez, 1997).

2.3.2.3. Reacciones adversas

Los efectos adversos se producen principalmente durante el uso a largo plazo suelen deberse a una acción excesiva sobre el balance hidroelectrolítico, el metabolismo y la reparación tisular, además de un efecto inhibitor en la secreción de corticotropina llevando a una insuficiencia adrenal (Jares y col, 2002). Son frecuentes los efectos a nivel digestivo, se presenta obesidad centripeta y cara de “luna llena” que se deben a una redistribución de la grasa, hiperglucemia secundaria a una alteración de metabolismo hidrocarbonado, que puede llegar a producir diabetes clínicamente manifiesta, osteoporosis que es debida a un efecto catabólico sobre la matriz proteica del hueso, alteración de la estructura normal de la piel, con aparición de estrías purpúreas, y

facilidad para la aparición de equimosis por contusión, efectos que son debidos a una alteración del metabolismo proteico (Taylor y Reide, 2001).

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Material vegetal

El material vegetal que se empleó para esta investigación fue manejado de manera que sus compuestos químicos no sufran alguna alteración que pueda interferir en los resultados de los diferentes estudios.

3.1.1. Recolección, secado, pulverización y conservación

La especie vegetal *X. spinosum* L. fue recolectada en el mes de abril del año 2009 del municipio de Taraco, este municipio pertenece a la séptima sección de la provincia Ingavi del Departamento de La Paz, se halla ubicado entre las coordenadas 16°26'08'' latitud sur y 68°56'43'' longitud oeste, limita al Norte y al Oeste con el Lago Titicaca y la República de Perú; al Sur con el municipio de Guaqui y al Este con el municipio de Tiahuanaku.

La especie vegetal *U. urens* L. fue recolectada en el mes de abril del año 2009 en el departamento de La Paz, provincia Ingavi, sexta sección Jesús de Machaca, cantón Chama a 110 km de la ciudad de La Paz ubicada a 68° 50'00'' longitud Oeste, 16°45'00'' latitud Sur.

La autenticación de las dos especie vegetales, *U. urens* L. (Voucher N°1) y *X. spinosum* L. (Voucher N°2), se realizó en el Herbario Nacional de Bolivia (LPB) a cargo del botánico Javier Quisbert.

El secado de las plantas después de la recolección, se realizó extendiendo las especies vegetales en una habitación ventilada a una temperatura ambiente (15 a 20 °C), evitando la exposición directa al sol. En los dos casos se separo la parte aérea y fue pulverizada hasta alcanzar un tamaño conveniente. Este material fue conservado en condiciones adecuadas para su posterior utilización.



Figura 7. Deseccación de las especies vegetales: a) *Xanthium spinosum* L. b) *Urtica urens* L.

3.2. Estudio de los parámetros de Calidad de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

El estudio de los parámetros de calidad nos permite detectar adulteraciones, como la sustitución y/o falsificación, también reconocer si la muestra es diferente a la descrita, si la recolección y almacenamiento fueron correctos, además determinar el grado de contaminación.

Para el estudio de los parámetros de calidad se siguió el método propuesto en la Farmacopea Española 2002.

3.2.1. Análisis micrográfico de las plantas recolectadas

El método utilizado fue adecuado al material estudiado, debido a que los órganos (hojas y tallos) de las plantas en estudio se emplean con fines medicinales se utilizó el método micrográfico estándar que consiste en el tratamiento de la muestra reducida a polvo y examinada al microscopio, utilizando agua e hidrato cloral como aclarantes y fluoroglucina clorhídrica para la coloración de tejido lignificado (coloración rosa). Se prepararon las muestras y se observó al microscopio óptico entre porta y cubreobjetos con gotas de agua, hidrato cloral y fluoroglucina clorhídrica, para diferentes preparaciones, en el microscopio se reconocieron los elementos celulares de interés micrográfico.

3.2.2. Análisis de las características organolépticas de las plantas recolectadas

Se analizaron las características organolépticas como olor, color, sabor, condición y textura de la droga pulverizada.

3.2.3. Determinación del contenido de humedad

La determinación del contenido de humedad se realizó por el método directo, se pesó 1g del material vegetal pulverizado y se lo transfirió al plato de la balanza de humedad (AND-MX50), donde se registro el porcentaje de humedad.

3.2.4. Determinación de cenizas totales

Para esta determinación se utilizó un horno mufla (Wise Therm FP-03, FHP-03), se emplearon 2g de material vegetal pulverizado exactamente pesado en un crisol de porcelana previamente calibrado, la muestra se carbonizó en una cocina y luego se incineró en un horno mufla a 550 °C por dos horas. Luego el crisol se enfrió en un desecador y se procedió a pesarlo. El proceso se repitió a partir de la carbonización de la muestra hasta obtener un peso constante, el ensayo se realizo por triplicado.

3.2.5. Determinación de cenizas ácidas

A las cenizas totales obtenidas en la anterior determinación, se añadieron 2-3 ml de ácido clorhídrico al 10%, el crisol se tapó con un vidrio reloj y se calentó en un baño de agua hirviendo por 10 min, se lavó el vidrio de reloj con 5 ml de agua caliente y se incorporo al contenido del crisol, la solución se filtró y lavó con agua hasta la ausencia de cloruros, se añadió solución de nitrato de plata, para precipitar cloruros, el papel filtro se secó a 105°C el que se transfirió al crisol original y se incineró en la mufla a 550°C durante dos horas, posteriormente se coloco en una desecadora y cuando alcanzo la temperatura ambiente se procedió a pesar el crisol. Se repitió el procedimiento hasta obtener un peso constante.

3.2.6. Determinación de cenizas solubles en agua

Se tomaron las cenizas totales obtenidas anteriormente y se le añadieron 15 a 20 ml de agua, se hizo hervir esta solución durante 5 minutos, luego se procedió a filtrar la misma a través de un papel filtro libre de cenizas. El filtro se carbonizó en un mechero y luego se incineró en la mufla a 550 °C durante dos horas.

3.2.7. Determinación de materia extraña en ambas plantas recolectadas

Se utilizaron muestras de 100g las cuales se esparcieron sobre un papel y separaron las materias extrañas manualmente con ayuda de una lupa, se pesó la materia extraña y se determinó el porcentaje en base a la muestra utilizada.

3.2.8. Índice de hinchamiento en ambas plantas recolectadas

Se llevó 1g de muestra a una probeta con tapón esmerilado, se humedeció la muestra con alcohol, y se añadió 25 ml de agua destilada, se tapó la probeta y se agitó cada 10 minutos durante una hora, se dejó en reposo por cuatro horas, se procedió a eliminar la mayor parte del líquido retenido a nivel de la muestra y de la misma manera las partículas que flotan, finalmente se midió el volumen ocupado por la muestra incluyendo el mucílago.

3.3. Preparación de los extractos: etéreo, diclorometánico y etanólico de ambas plantas

La obtención de los extractos orgánicos se realizó por percolación en frío mediante el procedimiento de polaridad creciente, por extracción sucesiva con éter de petróleo, diclorometano y etanol. Se emplearon 300g de material vegetal seco y pulverizado de cada especie, que fueron cargados en frascos de vidrio, a continuación se añadió el primer disolvente (éter de petróleo) se dejó macerar por veinticuatro horas, se retiró el disolvente percolado y se repitió el proceso hasta que los líquidos extractivos perdieran el color, lo que indica que la droga se ha agotado. El total de los líquidos extractivos se concentraron en un rotavapor (Heidolf Labarota 4000 digital) a presión reducida y

temperatura controlada hasta la obtención de un extracto de consistencia pastosa que se dejó secar a temperatura ambiente.

Para el cambio de disolvente se procedió a vaciar el material vegetal de los recipientes de vidrio extendiéndolo sobre un papel filtro hasta evaporar el disolvente residual. Después se cargaron nuevamente los frascos con el material vegetal y se añadió el segundo disolvente (diclorometano), se siguió el mismo procedimiento para el etanol al 70%. Al finalizar se procedió al cálculo del rendimiento para cada extracto.

3.3.1. Extractos acuosos

Para la obtención de los extractos acuosos, se procedió a verter agua destilada sobre el recipiente que contiene la planta pulverizada libre del último solvente (etanol), se tapó y se mantuvo así por un periodo de dos horas, posteriormente se filtro y se sometió a un proceso de liofilización (Christ ALPHA2-4 LO plus).

3.4. Determinación de la composición cualitativa de grupos mayoritarios de moléculas en los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. mediante la técnica *Screening* Fitoquímico.

Para la determinación de grupos de compuestos más importantes en los extractos acuoso, etanólico, diclorometánico y el extracto etéreo se realizó un *screening* fitoquímico cualitativo, mediante reacciones colorimétricas y de precipitación en tubos de ensayo.

3.4.1. Taninos

Son compuestos de naturaleza polifenólica, solubles en agua, alcohol, acetona e insolubles o poco solubles en éter, cloroformo y en general disolventes orgánicos apolares. Se dividen en taninos condensados que son polímeros de unidades flavánicas resistentes a la hidrólisis. Taninos hidrolizables que son ésteres de la glucosa y de ácidos fenólicos.

Para su determinación se utiliza cloruro férrico al 3% en gotas sobre el extracto, un precipitado color negro azulado da una reacción positiva para taninos gálicos y un precipitado marrón verdoso da positivo para taninos catéquicos.

3.4.2. Saponinas

Se caracterizan por sus propiedades tensioactivas, se disuelven en agua formando disoluciones espumantes, como heterósidos las saponinas pueden hidrolizarse dando azúcares y sapogeninas. Estos compuestos son poco solubles en agua pero solubles en acetona, cloroformo y disoluciones hidro-alcohólicas.

Para la determinación cualitativa se agita el tubo que contiene unos mililitros de la muestra, la formación de espuma persistente es positiva para compuestos saponínicos.

3.4.3. Antraquinonas

Estos compuestos se presentan en la naturaleza en forma de heterósidos o de geninas libres oxidadas o reducidas. La forma heterósida es soluble en agua y en alcohol y las geninas en disolventes orgánicos.

Para su determinación se toma un poco de la muestra a ensayar más agua e hidróxido de sodio al 5%, en caso positivo se observa la coloración roja.

3.4.4. Cumarinas

Estos compuestos son comunes en las plantas tanto en estado libre como en forma de heterósidos, las formas libres son solubles en alcoholes, las formas heterósidas son solubles en agua, en alcohol y en disolventes orgánicos polares. Para su determinación se ensaya con el reactivo de Borntrager, la aparición de una coloración azul indica un resultado positivo.

3.4.5. Flavonoides

Constituyen al tiempo que las xantonas y los antocianos los principales pigmentos naturales del Reino Vegetal. La mayor parte de sus heterósidos son solubles en agua, alcohol, ácidos y álcalis e insolubles en benceno, cloroformo y en general en disolventes

orgánicos apolares. Su determinación se realiza mediante la acción del hidróxido de amonio sobre la muestra donde una fluorescencia amarilla indica la presencia de flavonoides. La determinación de flavonas y flavanoles se realiza mediante la reacción de Shinoda, agregando a la muestra alcohol para disolverla y después algunos fragmentos de magnesio metálico seguidos de ácido clorhídrico concentrado por goteo, en caso positivo se observa una coloración anaranjada o roja.

3.4.6. Alcaloides

La mayoría poseen carácter básico débil por la presencia de nitrógeno, se encuentran fundamentalmente en forma de sales con ácidos orgánicos, los alcaloides en forma libre son solubles en disolventes orgánicos apolares, y sus sales son solubles en agua. Ambas formas son solubles en alcohol. Su determinación cualitativa se realiza mediante la prueba de Mayer donde un precipitado blanco indica reacción positiva, otra prueba es la de Wagner donde una coloración parda indica la presencia de alcaloides, también está la reacción de Dragendorff que da positiva para alcaloides con una coloración amarilla.

3.5. Perfil cromatográfico de los extractos de ambas plantas

La cromatografía en capa fina consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una superficie plana. La técnica seguida fue la propuesta por Stahi (1969) en su modalidad monodimensional ascendente de simple recorrido. En esta técnica una solución de la muestra que se analizó se aplicó por medio de un tubo capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (silicagel de 10 x 6cm x 2mm de espesor, 60 F₂₅₄ Merk.) distribuido uniformemente sobre una placa de aluminio. La placa se colocó verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluyente escogido, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluyente migró por capilaridad en la placa cromatográfica separando los diversos componentes de la mezcla estudiada, después de la separación se procedió a evaporar el eluyente y la placa se analizó utilizando luz ultravioleta. Para la detección fue útil la observación al UV a 254 y 365 nm. Se calcularon los valores del R_f (factor de retención), mediante la siguiente fórmula:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

3.5.1. Fases móviles

Se utilizaron tres fases móviles que se caracterizan por su diferente polaridad permitiendo la separación de compuestos apolares, semipolares y polares. Las fases móviles son las siguientes:

- a) Fase móvil poco polar: tolueno/acetona (8:2), éter/ acetona (9:1) en estas fases se separaron los extractos etéreo y diclorometánico.
- b) Fase móvil semipolar: tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) en esta fase se separaron los extractos diclorometánico y etanólico.
- c) Fase móvil polar: n-butanol/ácido acético glacial/agua (50:10:40) en esta fase se desarrollaron extractos etanólicos y acuosos.

3.6. Estudio farmacológico de los extractos de ambas plantas

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de los extractos de las dos especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L., administrados vía oral.

3.6.1 Estudio de la actividad Antiinflamatoria

Para la determinación de la actividad antiinflamatoria de los diferentes extractos se seleccionó el modelo descrito por Winter (1962).

3.6.1.2. Edema plantar agudo inducido por carragenina en ratones

Este modelo consiste en la administración subcutánea de una pseudodisolución de γ -carragenina (mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus*) a nivel de la aponeurosis plantar del ratón, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, etc.) y diversos factores del complemento que están implicados en la ampliación de la respuesta.

La vía elegida de administración de los extractos fue la vía oral. Se utilizaron ratones machos *Swiss* albinos con un peso de 22 ± 2 g proporcionados por el bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la UMSA, los animales fueron separados en lotes de seis, mantenidos *ad libitum* hasta el inicio de la experiencia. Los extractos etéreo, diclorometánico, etanólico y acuoso, fueron administrados vía oral previamente disueltos en una solución de *Tween* 1%, etanol 1% y agua, a una dosis de 1,5g de extracto por kg de peso corporal; la indometacina fue administrada vía oral a una dosis de 10mg por kg de peso corporal; la dexametasona fue administrada vía intraperitoneal a una dosis de 4mg por kg de peso corporal.

Los lotes así separados fueron:

- Lote control: administración del vehículo
- Lote patrón: administración de la indometacina
- Lote patrón: administración de la dexametasona
- Lote problema: administración de los extractos

Inicialmente se mide el espesor plantar basal de la pata trasera izquierda (E_0) de todos los animales mediante un Vernier (Metrology Fowler).

A continuación se administró por vía oral mediante una cánula el vehículo, la indometacina y la solución de extracto a cada lote de experimentación, la dexametasona se administró 30 minutos antes de la inoculación de la carragenina. Transcurrida una hora de la administración del vehículo, la indometacina y la solución de extracto, se inocula la carragenina (0.05 ml al 1% en suero fisiológico), mediante la inyección subcutánea en la aponeurosis plantar de la pata izquierda de todos los animales.

La medida de la evolución del edema se realizó a las 3, 5, 7 horas después de la administración de la carragenina mediante la medición del espesor de la pata, luego se determino el incremento del espesor para cada ratón. Los resultados de la medida del espesor de la pata de los animales de cada lote se expresaron como los promedios y la media del error estándar, la significancia estadística se determinó mediante la t-student.

Para calcular el porcentaje (%) de inhibición de la inflamación se calculó la media de los incrementos del espesor de cada lote para cada tiempo y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{\Delta E_C - \Delta E_P}{\Delta E_C} * 100\%$$

ΔE_C = Media del incremento del espesor plantar (E-E₀) en el lote control

ΔE_P = Media del incremento del espesor plantar (E-E₀) en el lote patrón o problema

3.6.2. Estudio de la actividad analgésica

La actividad analgésica de una sustancia puede determinarse mediante varias pruebas antinociceptivas que se basan en la aplicación de estímulos dolorosos (algésicos) y la valoración de cambios típicos observables en la conducta del animal. La mayor parte de los métodos de estudio se fundamentan en la determinación del umbral de reacción al dolor provocado por el estímulo algésico (CYTED, 1995).

Para la determinación de la actividad analgésica de los diferentes extractos se seleccionó el modelo descrito por Collier y col. (1968).

3.6.2.1. Inducción de contorsiones con ácido acético en ratones

Este modelo consiste en la administración intraperitoneal de ácido acético que produce un dolor de tipo visceral el cual se midió contando el número de contorsiones que presento el animal cada 5 minutos por un periodo de 30 minutos, post inyección del ácido acético. Una contorsión fue definida como una contracción de los músculos abdominales acompañado de la elongación del cuerpo y extensión de una o ambas extremidades posteriores.

Los diferentes extractos fueron administrados por vía oral. Se utilizaron ratones machos *Swiss* albinos con un peso de 22±2 g proporcionados por el Bioterio de la Facultad de

Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la UMSA, los animales fueron separados en lotes de seis, mantenidos *ad libitum* hasta el inicio de la experiencia.

Los lotes así separados fueron:

- Lote control: administración de vehículo
- Lote patrón: administración de indometacina
- Lote problema: administración de extractos

Los extractos se administraron por vía oral a una dosis de 1,5g de extracto por kg de peso corporal, la indometacina se administró vía oral a una dosis de 10mg/kg. Como agente algésico se empleó una solución acuosa de ácido acético; al grupo control se le administró solución salina fisiológica (NaCl 0,9 %).

Una hora después, se administró la disolución de ácido acético 0.2 ml (1%) por vía intraperitoneal a todos los lotes, inmediatamente después de la administración del agente algésico, cada animal se aisló en una caja individual para observar el número de contorsiones o estiramientos durante 30 minutos. Para la determinación del porcentaje de analgesia se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \textit{Analgesia} = \frac{(Xc - Xp)}{Xc} \times 100$$

Xp = Número de contorsiones del grupo problema

Xc = el número de contorsiones del grupo control.

3.7. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron en porcentajes, promedios y errores de la media, se consideró como significativo un $p < 0.05$. Se utilizaron las siguientes pruebas:

- Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para comparar subconjuntos homogéneos.
- Análisis de la varianza por ANOVA
- La prueba t de student de datos pareados para evaluar si dos grupos tratados difieren entre sí de manera significativa.
- El análisis de los resultados se realizó usando el programa computacional estadístico SPSS (versión 17).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Estudio de los parámetros de Calidad de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Para la utilización de las muestras vegetales en los ensayos de actividad farmacológica en ratones, se corroboró la identidad de estas muestras y se verificó su grado de pureza mediante la determinación de sus características morfológicas y químicas, empleando técnicas como el análisis micrográfico, organoléptico, de humedad, de cenizas totales, de cenizas ácidas, de cenizas solubles en agua, de elementos extraños y de hinchamiento.

4.1.1 Análisis micrográfico de las plantas recolectadas

La micrografía constituye una técnica sencilla y económica que permite identificar una especie vegetal y su grado de pureza, mediante la comparación de su morfología con una muestra auténtica. Por otro lado, esta técnica constituye una herramienta básica y valiosa cuando se trata de muestras pulverizadas de droga.

4.1.1.1. *Xanthium spinosum* L.

Debido a que no se dispone de antecedentes de la evaluación micrográfica de esta especie vegetal, el análisis de la planta recolectada se realizó comparando su morfología con la del género *Xanthium*, que presenta numerosos tricomas como una de sus características sobresalientes. La aclaración leve con hidrato de cloral de una muestra de la planta recolectada, evidenció la presencia de fragmentos de tricomas (figura 8.a), epidermis con estomas (figura 8.b), fibras lignificadas (figura 8.c) y parénquima asociado a vasos (figura 8.d).

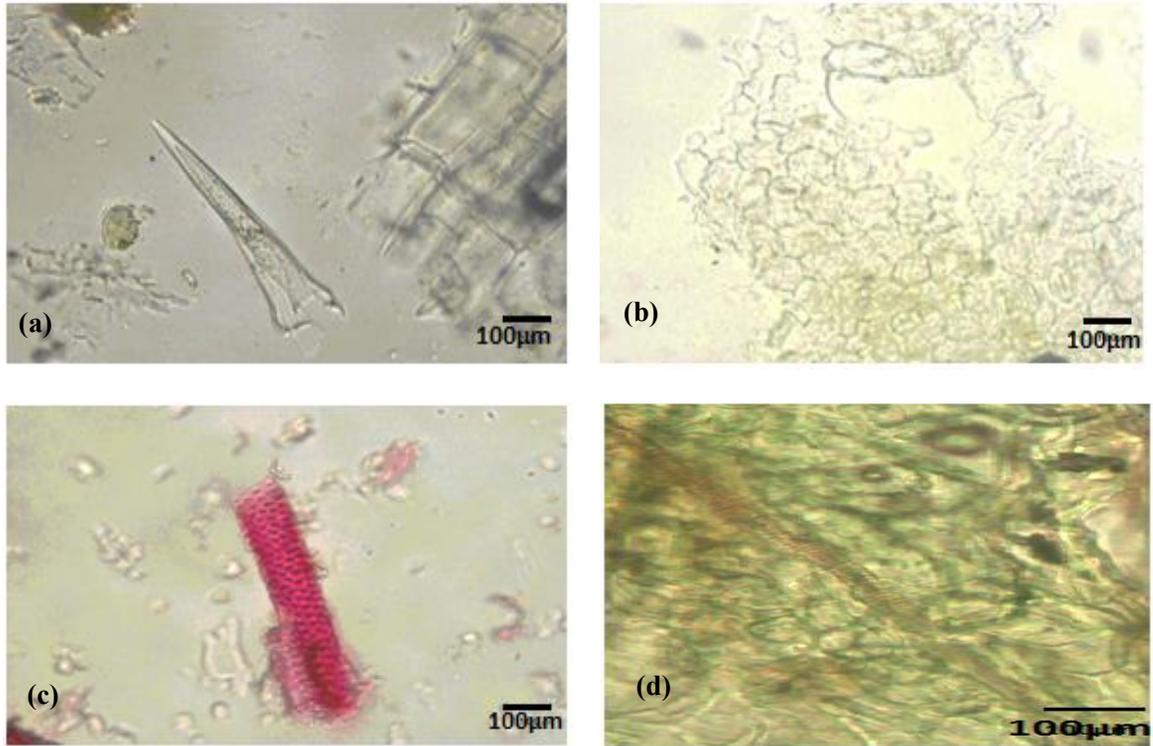


Figura 8. Vista microscópica de elementos celulares de la planta recolectada a orillas del lago Titicaca: a) pelo tector de base ancha (400x); b) epidermis con estomas (100x); c) fibra lignificada (400x) y d) parénquima asociada a vasos (100x).

4.1.1.2. *Urtica urens* L.

El análisis micrográfico de la planta recolectada se realizó comparando su morfología con la reportada en un estudio anterior (Boelcke y Viznis, 1987), en el que *U. urens* presenta numerosos tricomas o pelos como una de sus características más notables, estos pelos urticantes son pelos glandulares que en su ápice presentan una zona de fácil ruptura al contacto. La aclaración leve con *hidrato de cloral* de una muestra de la planta recolectada en una zona próxima a la ciudad de La Paz (cantón Chama) evidenció la presencia de pelos urticantes unicelulares (figura 9.a), pelos pluricelulares (figura 9.b), parénquima (figura 9.c) y vasos helicoidales (figura 9.d), lo que sugiere que esta planta sería *U. urens* L.

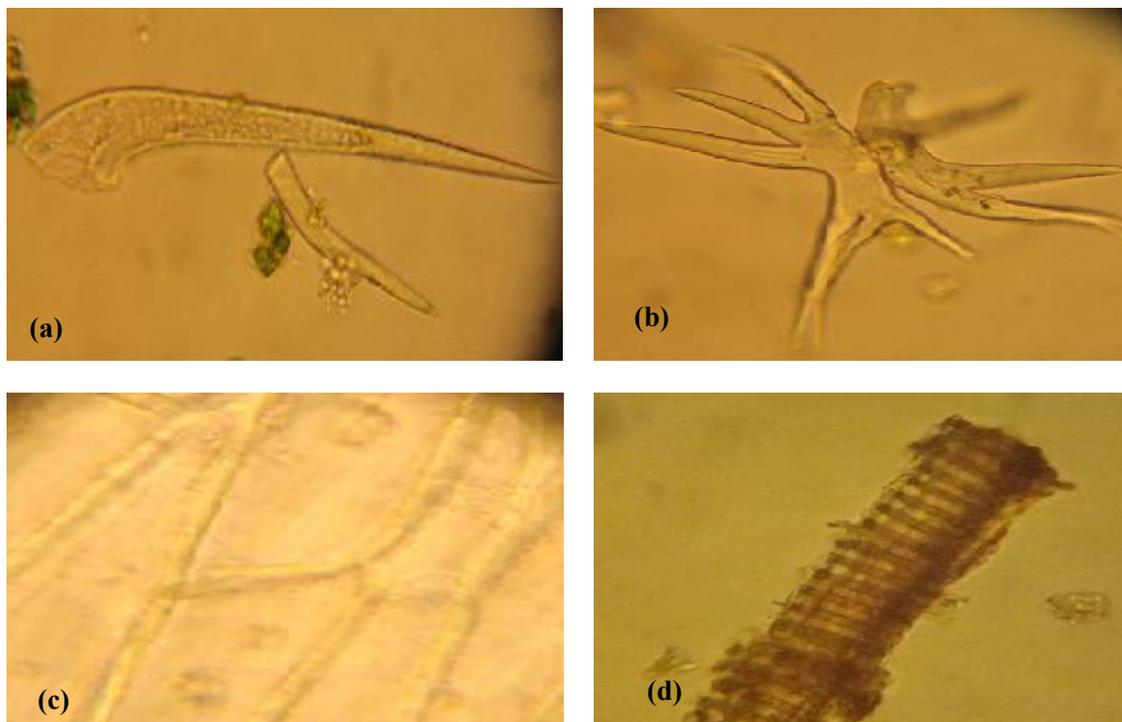


Figura 9. Vista microscópica de elementos celulares de la planta recolectada en el cantón Chama (Departamento de La Paz): a) pelo urticante unicelular (400 x). b) pelo pluricelular (400x). c) parenquima (400x). d) vaso helicoidal (400x).

4.1.2. Análisis de las características organolépticas de las plantas recolectadas

Las características organolépticas de la droga cruda seca indican el estado de conservación de la misma. Así, si una droga seca perdiese su color u obtuviese un olor extraño, se consideraría que la misma fue procesada de forma inadecuada.

De acuerdo con las características determinadas para las dos plantas en estudio (tabla 2), las mismas serían aptas para su posterior evaluación farmacológica.

Tabla 2. Características organolépticas en droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L. y de *U. urens* L.

CARATERÍSTICA	<i>Xanthium spinosum</i> L.	<i>Urtica urens</i> L.
OLOR	Sui generis	Sui generis
COLOR	Verde oscuro	Verde oscuro
SABOR	Amargo	Propio
CONDICIÓN	Parte aérea seca	Parte aérea seca
TEXTURA	Fibrosa	Urticante

4.1.3. Determinación del contenido de humedad de ambas plantas

Una manera de conservar una droga cruda es eliminar su exceso de humedad y así evitar el crecimiento de bacterias y hongos en la misma y, la transformación de sus constituyentes químicos causada por hidrólisis. Las monografías de las farmacopeas limitan el contenido de agua en drogas vegetales entre 8 y 14%, especialmente en las que tienen facilidad de absorberla o en las que, el exceso de agua causa su deterioro.

El porcentaje de humedad determinado por el método directo en este estudio para las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. fue de 7,78% y 2,59% respectivamente (tabla 3). Estos valores, por ser menores a 10%, se encontrarían dentro del rango establecido por algunas farmacopeas para garantizar su estabilidad vegetal (British Pharmacopoea, 2004; Sharapin, 2000).

Tabla 3. Contenido de humedad de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie vegetal	Humedad (%)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	7,78
<i>Urtica urens</i> L.	2,59

4.1.4. Determinación de cenizas totales de ambas plantas

La cantidad de ceniza que se obtiene por incineración de muestras vegetales es un indicativo de la calidad de la muestra estudiada y constituye una base para evaluar su pureza, lo que además brinda información acerca de una posible adulteración de la droga con material inorgánico o cuerpos extraños y de su contenido en sales inorgánicas. Las cenizas totales se componen generalmente de fosfatos, carbonatos, sulfatos, sílice y silicatos.

El porcentaje de cenizas totales para las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. fue de 13,59% y 24,78% respectivamente (tabla 4). A la fecha no se cuentan con valores de referencia de este parámetro para *X. spinosum* L., para *U. urens* L. el valor de referencia es 8%, pero de manera general, la cantidad de cenizas totales de una planta es inversamente proporcional a su calidad.

Tabla 4. Contenido de cenizas totales de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Espece vegetal	Cenizas totales (%)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	13,59
<i>Urtica urens</i> L.	24,78

4.1.5. Determinación de cenizas ácidas de ambas plantas

Las cenizas insolubles en ácido se componen de sílice, un elevado porcentaje de estas cenizas indica que la especie vegetal está contaminada con productos térreos, el valor de estas cenizas puede alertar sobre la presencia de metales pesados en la composición de la planta que pueden conferir una determinada toxicidad a sus extractos. En caso de que el resultado obtenido sea bajo disminuye el riesgo de toxicidad, caso contrario la incrementa. La determinación del porcentaje de cenizas ácidas para las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. dio 5,97% y 2,23% respectivamente (tabla 5).

Nuevamente, no se cuentan con datos referenciales de estas dos especies para comparar con los resultados obtenidos, por lo que sólo se puede sugerir que *U. urens* L. presentaría un mayor contenido de carbonatos (solubles en HCl) que *X. spinosum* L.

Tabla 5. Contenido de cenizas ácidas de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie vegetal	Cenizas ácidas (%)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	5,97
<i>Urtica urens</i> L.	2,23

4.1.6. Determinación de cenizas solubles en agua de ambas plantas

La determinación de este parámetro para las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. dio 5,22% y 6,34%, respectivamente (tabla 6). Estos valores experimentales confirmarían de alguna manera que la muestra de *U. urens* L. contiene mayores cantidades de carbonatos (insolubles) que la de *X. spinosum* L.

Tabla 6. Contenido de cenizas solubles en agua de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie vegetal	Cenizas solubles (%)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	5,22
<i>Urtica urens</i> L.	6,34

4.1.7. Determinación de elementos extraños de ambas plantas

La dificultad de obtener una droga vegetal enteramente pura es totalmente reconocida, las farmacopeas contienen estamentos para el porcentaje de otras partes de la planta o de la materia orgánica que puede ser permitida en la droga que será usada con fines medicinales. En general, las drogas contienen una apreciable cantidad de materia

extraña, excrementos de animales, insectos, hongos, etc. Sin embargo el porcentaje de tales sustancias puede ser insuficiente para causar el rechazo de la droga.

La determinación del porcentaje de elementos extraños en las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. dio 0,6% y 0,5%, respectivamente (tabla 7). Tampoco se cuentan con datos específicos de estas especies para su contrastación con los valores obtenidos. Sin embargo, de manera general, las farmacopeas establecen como valor límite de materia extraña del 2%, por lo que, tanto *X. spinosum* L. y *U. urens* L. serían aptas para su utilización como droga medicinal.

Tabla 7. Contenido de elementos extraños de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie vegetal	Elementos extraños
<i>Xanthium spinosum</i> L.	0,6
<i>Urtica urens</i> L.	0,5

4.1.8. Determinación del índice de hinchamiento para ambas plantas

El índice de hinchamiento de una muestra vegetal, es el volumen, expresado en mililitros (mL), ocupado por un gramo de droga cuando ésta es humedecida. El índice de hinchamiento determinado para las especies vegetales *X. spinosum* y *U. urens* fue de 8 mL y 17 mL, respectivamente (tabla 8). Estos valores indican que *U. urens* L. posee una mayor capacidad para retener agua que *X. spinosum* L.

Tabla 8. Índice de hinchamiento de la droga seca y pulverizada de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie vegetal	Índice de hinchamiento (mL)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	8
<i>Urtica urens</i> L.	17

4.2. Rendimiento de los procesos de extracción

Para cada una de las especies estudiadas, en la tabla 9, se presentan los rendimientos de los extractos obtenidos con disolventes de polaridad creciente, estos rendimientos se tendrán en cuenta al momento de calcular la dosis de administración de cada extracto requerida para los individuos de experimentación en los distintos ensayos farmacológicos.

Tabla 9. Rendimiento de los extractos de *X. spinosum* L y *U. urens* L.

Especie	Medio de Extracción	Rendimiento de la extracción (%)
<i>Xanthium spinosum</i> L.	Etéreo	4,1
	Diclorometánico	2,4
	Etanólico	9,1
	Acuoso	20,7
<i>Urtica urens</i> L.	Etéreo	3,5
	Diclorometánico	1,3
	Etanólico	2,7
	Acuoso	13

Las tasas de extracción de *X. spinosum* L. fueron mayores cuando se utilizó un medio acuoso que con los demás extractantes, lo que le otorga a los componentes químicos de esta planta una elevada capacidad de disolución. Respecto a *U. urens* L., el mismo presenta un comportamiento similar que *X. spinosum* L.

4.3. Determinación de la composición cualitativa de grupos mayoritarios de moléculas en los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. mediante la técnica *Screening* Fitoquímico.

La caracterización de los grupos químicos activos de estas las especies en estudio se recoge en las tablas 10 y 11.

Tabla 10. *Screening* fitoquímico de *X. spinosum* L.

Ensayo	Extracto Etéreo	Extracto Diclorometánico	Extracto Etanólico	Extracto Acuoso
Taninos		-	+++	+++
Alcaloides		-	++	+
Compuestos reductores			+++	++
Esteroles	+	+	+++	++
Flavonoides		+	+	+++
Polisacáridos				+++
Mucilagos				+++
Saponinas				-
Amidas				-
Antocianidinas				+
Cumarinas			+++	+++
Antraquinonas				-

Según los resultados de la (tabla 10), los extractos etanólico y acuoso de *X. spinosum* L. contienen taninos, alcaloides, esteroles, flavonoides, polisacáridos, mucilagos, cumarinas y antocianidinas, cabe señalar que también se encuentran esteroles y

flavonoides en el extracto diclorometánico, en el caso del extracto etéreo solo se evidencio la presencia de esteroides. Una parte fundamental de la presente tesis es comprobar la presencia de flavonoides en esta especie vegetal, así como compuestos fenólicos, ya que estos compuestos están relacionados con la actividad antiinflamatoria (State tradicional Chinese, 1999; Ying y col., 2008; Ma y col., 1998; Ting y col., 2006; Qin y col., 2006; Han y col., 2006). A través de los ensayos se observo cualitativamente que *X. spinosum* L. presenta estos compuestos.

Tabla 11. Screening fitoquímico *U. urens* L.

Ensayo	Extracto Etéreo	Extracto Diclorometánico	Extracto Etanólico	Extracto Acuoso
Taninos		+	+++	+++
Alcaloides	+	+	++	+
Compuestos reductores		+	++	+++
Esteroides	+		+++	+++
Flavonoides			-	+++
Polisacáridos				++
Mucílagos				+++
Saponinas				-
Amidas				-
Antocianidinas			-	+
Cumarinas	-		+	++

De acuerdo con los datos recogidos en la tabla 11, la muestra de *U. urens* L. presenta taninos en los extractos diclorometánico, etanólico y acuoso; alcaloides en los extractos diclorometánico, etanólico y acuoso; compuestos reductores en los extractos etanólico y acuoso; flavonoides en el extracto acuoso; esteroides en los extractos acuoso y etanólico; polisacáridos en el extracto acuoso, mucílagos en el extracto acuoso; antocianidinas en el extracto acuoso y cumarinas en los extractos etanólico y acuoso.

En los extractos acuoso y etanólico se ha obtenido un resultado fuertemente positivo para la presencia de flavonoides que coincide con los resultados obtenidos en anteriores estudios (Marrasini y col, 2010; Florence y col., 2010), lo que indica que esta muestra de *U. urens* L. muy probablemente posea actividad antiinflamatoria debida a estos compuestos.

4.4. Perfil cromatográfico de los extractos de ambas plantas

Mediante el perfil cromatográfico se pudo observar la separación gradual de los componentes de los extractos en bandas, en orden creciente de interacción con la fase estacionaria.

4.4.1. Extracto etéreo de ambas plantas

El revelado de las placas cromatográficas del extracto etéreo de *X. spinosum* L. muestra bandas azuladas a 254 y 365 nm de longitud de onda (figura 10 y tabla 12), que estarían relacionadas con estructuras tipo flavonoide, también se puede sugerir la presencia de pigmentos y grasas.

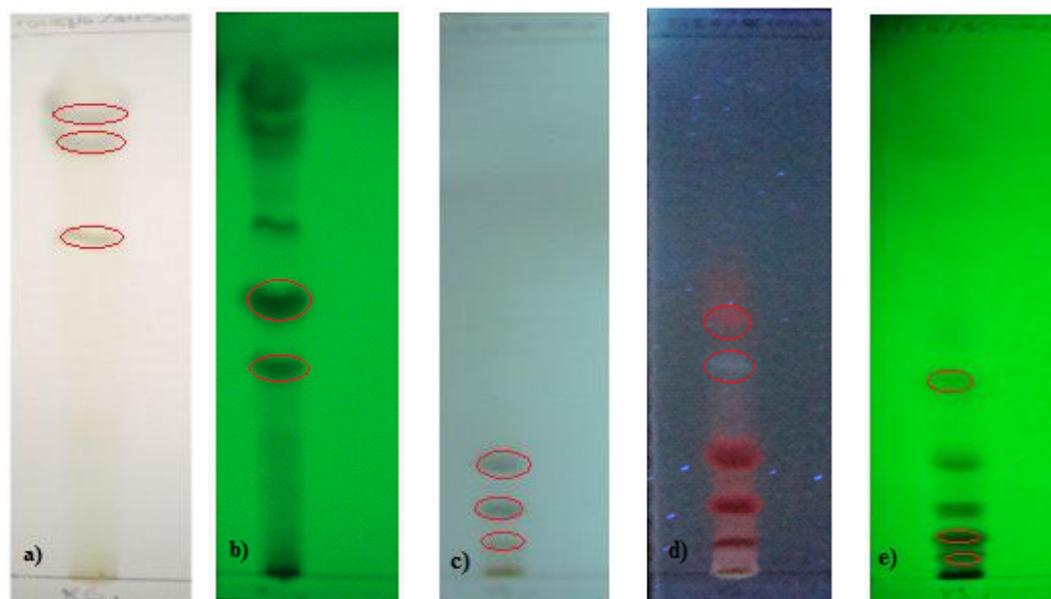


Figura 10. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etéreo de *X. spinosum* L. en fase móvil: a) tolueno/acetona (8:2) b) tolueno/acetona (8:2) (254 nm) c) Éter/acetona (9:1) d) Éter/acetona (9:1) (365nm) e) Éter/acetona (9:1) (254nm).

Tabla 12. Factores de retención (Rf) del extracto etéreo de *X. spinosum* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃
Tolueno/acetona	0,57	0,73	0,78
Tolueno/acetona (254)	0,35	0,45	---
Éter/acetona	0,12	0,19	0,21
Éter/acetona (365)	0,36	0,45	---
Éter/acetona (254)	0,04	0,07	0,32

En el revelado de las placas cromatográficas del extracto etéreo de *U. urens* L. se observan bandas amarillas y azuladas a 365 nm (figura 11 y tabla 13), lo que indicaría

la presencia de flavonoides apolares por situarse después de la mitad de la placa. Por otra parte, la presencia de pigmentos sugiere la presencia de grasa.

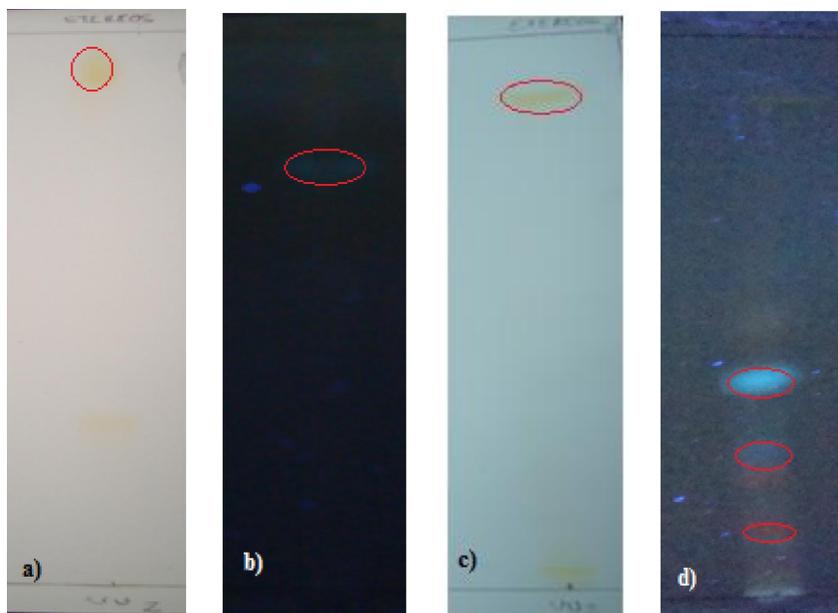


Figura 11. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etéreo de *U. urens* L. en fase móvil: a) tolueno/acetona (9:2) b) tolueno/acetona (9:2) (365 nm) c) Éter/acetona (9:1) d) Éter/acetona (9:1) (365nm).

Tabla 13. Factores de retención (Rf) del extracto etéreo de *U. urens* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃
Tolueno/acetona	0,83	---	---
Tolueno/acetona (365)	0,70	---	---
Éter/acetona	0,80	---	---
Éter/acetona (365)	0,13	0,22	0,37

4.4.2. Extracto diclorometánico de ambas plantas

El revelado de las placas cromatográficas del extracto diclorometánico de *X. spinosum* L. muestra bandas amarillas, amarillo verdosas y oscuras a 365 nm que pudieran estar relacionadas con estructuras tipo flavonoide polares o tipo cumarina para la fase móvil tolueno/acetona (figura 12 y tabla 14). Se pueden observar numerosas bandas, pudiendo considerarse el extracto diclorometánico una buena alternativa para el estudio de metabolitos presentes en este extracto.

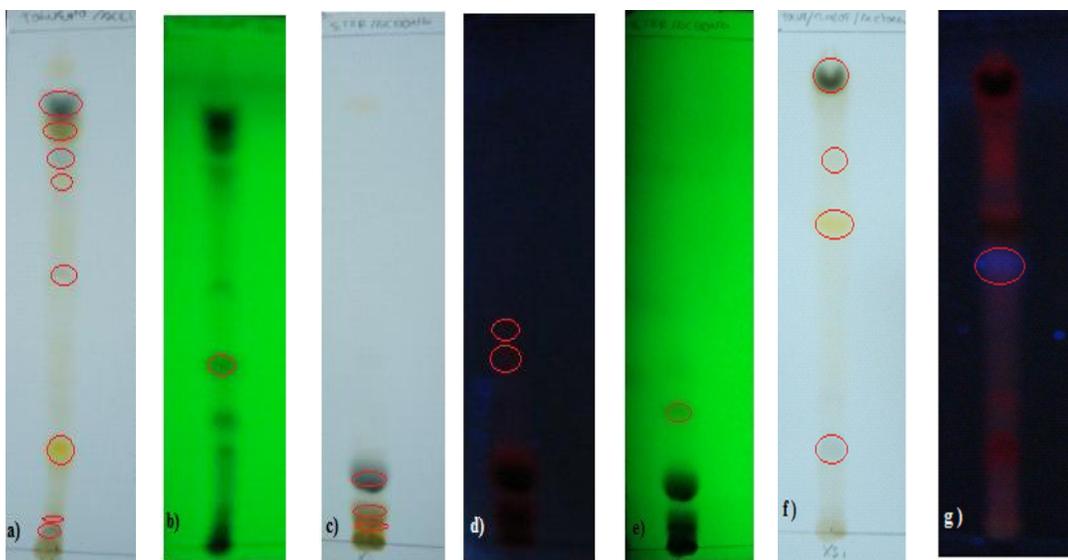


Figura 12. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto diclorometánico de *X. spinosum* L. en fase móvil: a) tolueno /acetona (8:2) b) tolueno/acetona (8:2) (365 nm) c) Éter/acetona (9:1) d) Éter/acetona (9:1) (365nm) e) Éter/acetona (9:1) (254 nm) f) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) g) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) (365 nm).

Tabla 14. Factores de retención (Rf) del extracto diclorometánico de *X. spinosum* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃	Rf ₄	Rf ₅	Rf ₆	Rf ₇	Rf ₈
Tolueno/acetona	0,04	0,06	0,24	0,47	0,63	0,67	0,72	0,77
Tolueno/acetona (254)	0,33	---	---	---	---	---	---	---
Éter/acetona	0,04	0,06	0,10	---	---	---	---	---
Éter/acetona (365)	0,32	0,38	---	---	---	---	---	---
Éter/acetona (254)	0,25	---	---	---	---	---	---	---
Tolueno/cloroformo/acetona	0,15	0,54	0,66	0,80	---	---	---	---
Tolueno/cloroformo/acetona (365)	0,62	---	---	---	---	---	---	---

En el revelado de las placas cromatográficas del extracto diclorometánico de *U. urens* L. se observan bandas amarillas, amarillo verdosas y azules fluorescentes que bien podrían estar relacionadas con la presencia de estructuras tipo flavonoide, las bandas de color rojo indicarían la presencia de clorofila (figura 13 y tabla 15).

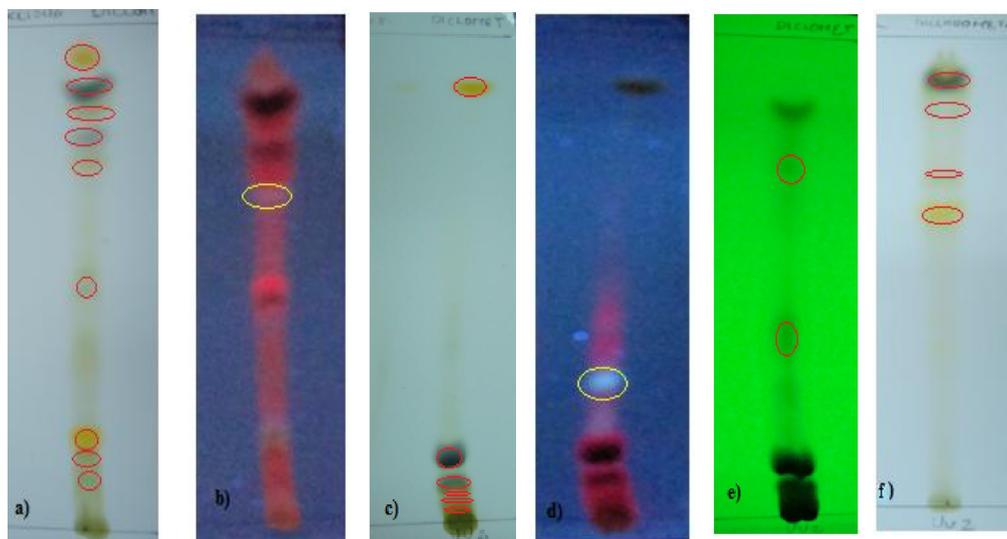


Figura 13. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto diclorometánico de *Urtica urens* L. en fase móvil: a) tolueno/acetona (8:2) b) tolueno/acetona (8:2) (365 nm) c) Éter/acetona (9:1) d) Éter/acetona (9:1) (365nm) e) Éter/acetona (9:1) (254 nm) f) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35).

Tabla 15. Factores de retención (Rf) del extracto diclorometánico de *U. urens* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃	Rf ₄	Rf ₅	Rf ₆	Rf ₇	Rf ₈	Rf ₈
Tolueno/acetona	0,08	0,12	0,26	0,55	0,74	0,79	0,84	0,87	0,94
Tolueno/acetona (365)	0,61	---	---	---	---	---	---	---	---
Éter/acetona	0,02	0,05	0,07	0,08	0,12	0,8	---	---	---
Éter/acetona (365)	0,27	---	---	---	---	---	---	---	---
Éter/acetona (254)	0,35	0,74	---	---	---	---	---	---	---
Tolueno/cloroformo/acetona	0,55	0,62	0,74	0,80	---	---	---	---	---

4.4.3. Extracto etanólico de ambas plantas

En el revelado de las placas cromatográficas del extracto etanólico de *X. spinosum* L. se observan bandas amarillas y azules fluorescentes a 365 nm que pudieran estar relacionadas con estructuras tipo flavonoide (figura 14 y tabla 16).

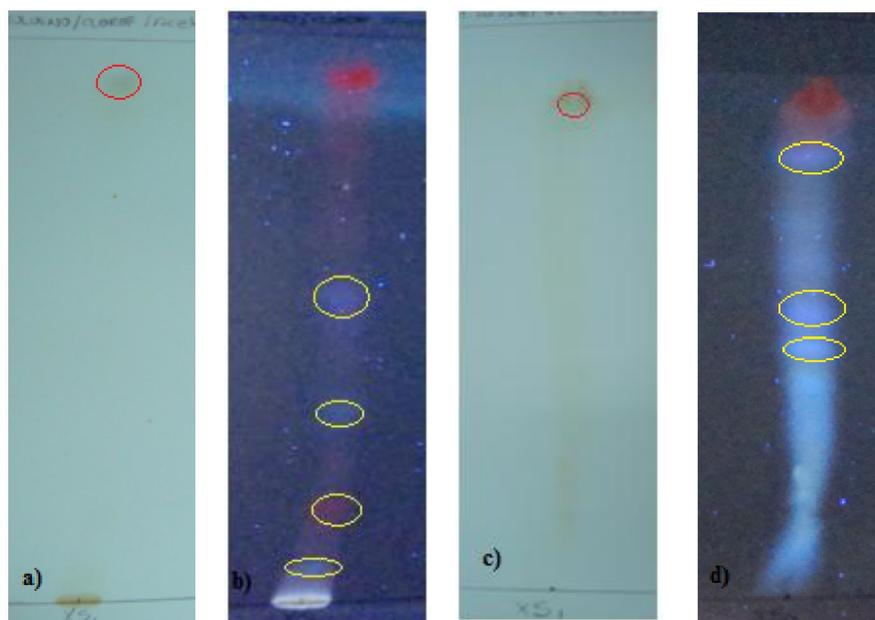


Figura 14. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etanólico de *X. spinosum* L. en fase móvil: a) tolueno/cloroformo /acetona (40:25:35) b) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) (365 nm) c) n-butanol/ácido acético glacial/agua (50:10:40) d) n-butanol/ácido acético/agua (365 nm).

Tabla 16. Factores de retención (Rf) del extracto etanólico de *X. spinosum* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃	Rf ₄
Tolueno/cloroformo/acetona	0,83	---	---	---
Tolueno/cloroformo/acetona (365)	0,06	0,15	0,30	0,48
N-butanol/ácido acético glacial/agua	0,76	---	---	---
N-butanol/ácido acético glacial/agua (365)	0,52	0,57	0,67	---

En el revelado de las placas cromatográficas del extracto etanólico de *U. urens* L. se observan bandas amarillas verdosas y azules fluorescentes a 365 nm que pudieran estar relacionadas con estructuras tipo flavonoide (figura 15 y tabla 17).

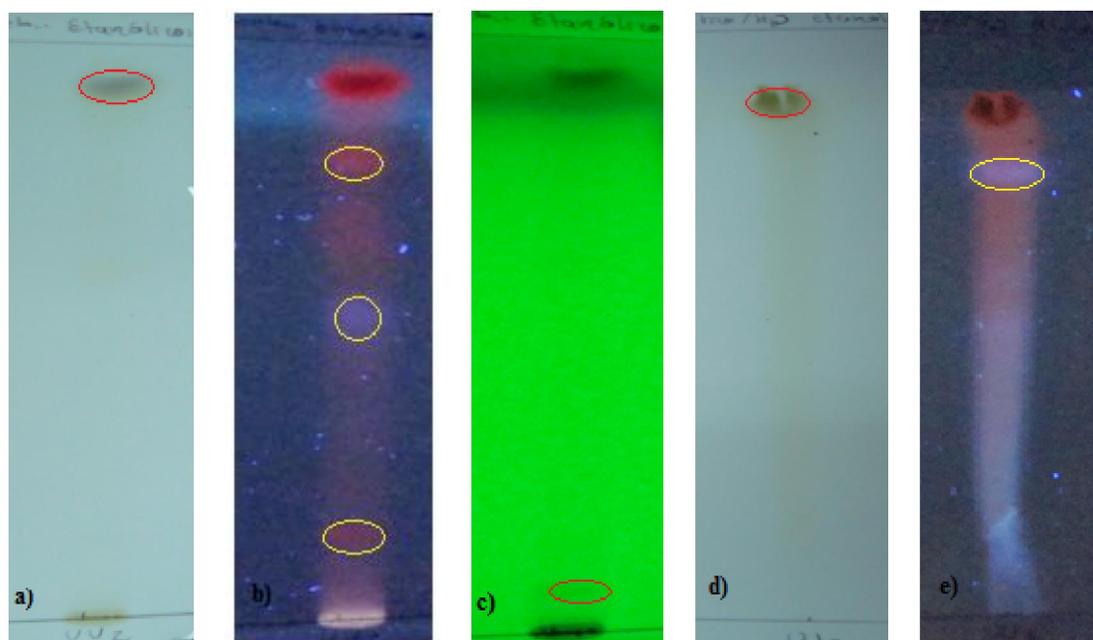


Figura 15. Cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etanólico de *U. urens* L. en fase móvil: a) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) b) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) (365 nm) c) tolueno/cloroformo/acetona (40:25:35) (254 nm) d) n-butanol/ácido acético/agua (50:10:40) e) n-butanol/ácido acético/agua (50:10:40) (365 nm).

Tabla 17. Factores de retención (Rf) del extracto etanólico de *U. urens* L.

FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃
Tolueno/cloroformo/acetona	0,84	--	---
Tolueno/cloroformo/acetona (365)	0,47	0,55	0,72
Tolueno/cloroformo/acetona (254)	0,06	--	---
N-butanol/ácido acético glacial/agua	0,07	--	---
N-butanol/ácido acético glacial/agua (365)	0,68	--	---

4.4.4. Extractos acuosos de ambas plantas

Finalmente, los extractos acuosos, aunque mostraron evidencias cualitativas propias de flavonoides, los compuestos presentes en estas fracciones resultaron muy retenidos y poco resueltos en las fases móviles evaluadas (figura 16 y tabla 18).

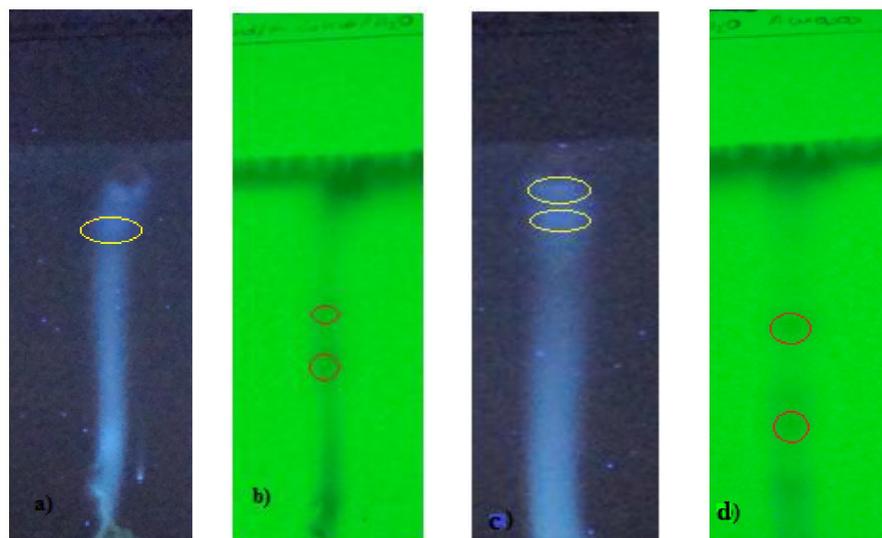


Figura 16. Cromatografía en capa fina (CCF). Extracto acuoso de *X. spinosum* L. en fase móvil: a) n-butanol/ácido acético/agua (365 nm) (50:10:40) b) n-butanol/ácido acético/agua (254 nm). Extracto acuoso de *U. urens* L. en fase móvil: c) n-butanol/ácido acético/agua (50:10:40) (365 nm) d) n-butanol/ácido acético/agua (50:10:40) (254 nm).

Tabla 18. Factores de retención (Rf) de los extractos acuosos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.

	FASE MÓVIL	Rf ₁	Rf ₂
<i>X. spinosum</i> L.	N-butanol/ácido acético/glacial/agua (365)	0,67	---
	N-butanol/ácido acético/glacial/agua (254)	0,42	0,49
<i>U. urens</i> L.	N-butanol/ácido acético/glacial/agua (365)	0,64	0,69
	N-butanol/ácido acético/glacial/agua (254)	0,2	0,30

La repetitividad en las distancias entre las bandas de las distintas cromatoplasmas confirmaría de alguna manera la presencia de flavonoides y con ello la hipótesis formulada que, es posible que los extractos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. posean actividad antiinflamatoria.

4.5. Estudio Farmacológico de los extractos de ambas plantas

Se evaluó la posible actividad antiinflamatoria y analgésica de los extractos etéreos, diclorometánicos, etanólicos y acuosos de ambas especies vegetales, empleando modelos farmacológicos validados como ser el edema plantar inducido por carragenina y la inducción de contorciones inducidas por ácido acético en ratones.

4.5.1. Estudio de la actividad antiinflamatoria

El efecto antiinflamatorio de los extractos se evaluó a través del edema inducido por carragenina (Sugishita y col., 1981), administrando una solución del alga *Chondrus crispus*, más conocido como carragenina, un polisacárido sulfatado que se utiliza como irritante para inducir la formación de edema a nivel de la aponeurosis plantar del ratón provocando una reacción de carácter inflamatorio agudo, no específico, que resulta de la acción secuencial de varios mediadores, como la histamina, la serotonina, la bradiquinina y las prostaglandinas (Di Rosa y col., 1971; Heller y col., 1998).

En ratones, la inyección intraplantar de carragenina produce una respuesta peculiar oedematogénica, que posee un perfil bifásico, con pico a las 6 y 72 horas (Levy, 1969;

Sugishita y col., 1981; Henriques y col., 1987; Ianaro y col., 1994; Posadas y col., 2004). El edema de pata inducido por carragenina en el ratón, se asocia también con los cambios nociceptivos en la pata y la migración de células inflamatorias al sitio de la inyección (Posadas y col., 2004; Cunha y col., 2005). Recientemente, se ha demostrado que la segunda fase de la respuesta inflamatoria después de la inyección de carragenina en la pata de los ratones se asocia con la producción de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), una elevada producción de prostaglandinas (por la acción de las ciclooxigenasas 1 y 2, COX-1 y COX-2), radicales libres oxigenados (NO derivados de eNOS y iNOS) e infiltración de neutrófilos (Posadas y col., 2004; Bucci y col., 2005; Morris, 2003). De acuerdo con la participación de estos mediadores de la inflamación, se observa tres fases diferenciadas en el edema, fases: primaria, secundaria y tardía. (García y col., 2000).

Fase primaria: (1ª hora) debida principalmente al efecto traumático de la inyección y liberación simultánea de histamina y serotonina que ejercen un efecto máximo.

Fase secundaria: (1 a 2,5 horas) se debe en gran parte a la liberación de cininas.

Fase tardía: (2,5 a 6 horas) caracterizada principalmente por la liberación de prostaglandinas, NO (óxido nítrico), radicales superóxido, posiblemente neuropéptidos y por una máxima migración leucocitaria de células polimorfonucleares (70%) y mononucleares (30%).

Xanthium spinosum L.

El estudio prosiguió con la evaluación del posible efecto antiinflamatorio de los distintos extractos administrados a los ratones por vía oral, siguiendo el protocolo de edema plantar inducido por carragenina descrito en el apartado 3.6.1.2. Para esta evaluación se administró una dosis de 1,5 g/kg de peso corporal.

De acuerdo a los porcentajes de inhibición de la inflamación de la aponeurosis plantar de los ratones, reflejados en la figura 17, en el grupo tratado con el control positivo indometacina (utilizado como fármaco de referencia) se observa una inhibición de la inflamación máxima de 60,7% a las siete horas después de haber administrado el agente

irritante, de la misma manera ocurrió con el control positivo dexametasona, el cual llegó a inhibir la inflamación en un 95,2%. Se debe destacar que los controles positivos causaron una significativa inhibición de la inflamación, con un índice estadístico $p < 0,05$. Asimismo, los extractos acuoso, etanólico y diclorometánico de *X. spinosum* L. mostraron un efecto antiinflamatorio de moderado a alto (64,8%, 66,7%, 53%, respectivamente) con una tendencia ascendente al cabo de siete horas. En el caso del extracto etéreo, a diferencia de los demás extractos el efecto inhibitorio de la inflamación fue significativo sólo al cabo de las siete horas, con 49,5%.

Dado que los extractos acuoso, etanólico y diclorometánico, de *X. spinosum* L. muestran efecto antiinflamatorio a partir de las tres horas de la administración del agente irritante, se puede atribuir a estos extractos una actividad en fase tardía, al respecto, estudios anteriores realizados *in vitro* demostraron que un extracto acuoso del género *Xanthium* disminuyó el nivel de NO y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α asociados con la inflamación (Ming y col., 2011; In-Tae y col., 2005). Por otra parte, el extracto etéreo presentaría un efecto antiinflamatorio en fase tardía, lo que indicaría que este extracto se absorbe de manera lenta cuando su administración es por vía oral.

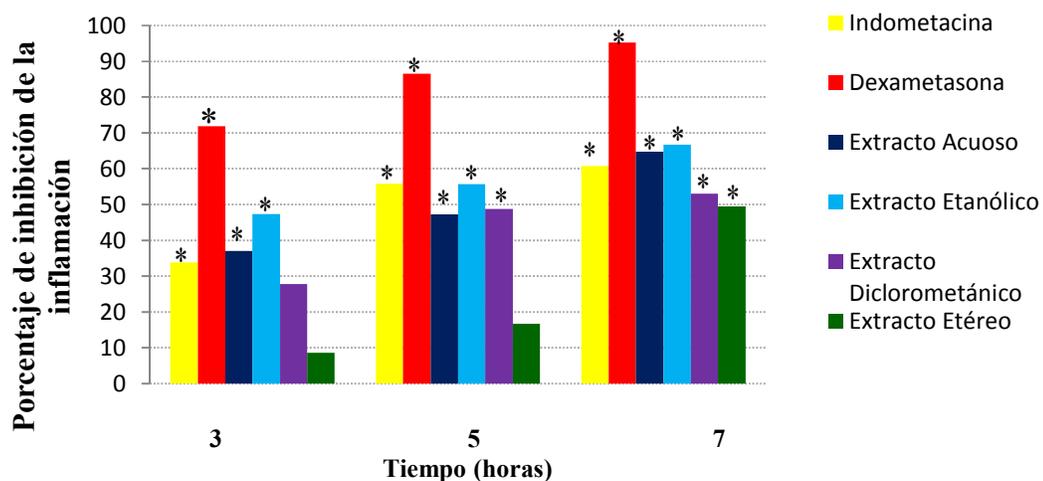


Figura 17. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para los diferentes extractos de *X. spinosum* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

Urtica urens L.

Al igual que en el caso anterior, los controles positivos presentaron valores significativos de actividad antiinflamatoria (figura 18). Por su parte, los extractos étanólico y acuoso presentaron un efecto inhibitorio de la inflamación en fase tardía, con valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$). Por otra parte, si bien el extracto diclorometánico presentó cierto efecto inhibitorio de la inflamación, no alcanzó valores estadísticamente significativos. Finalmente, el extracto etéreo presentó un efecto inflamatorio, agravando la condición de los ratones.

La reducción del edema inducido por la carragenina reportado por los diferentes extractos sugiere que estas especies vegetales contienen uno o varios compuestos que pueden ser activos frente a la inflamación. Proponemos que el efecto observado puede deberse a la capacidad de los extractos para inhibir sistémicamente, la liberación y/o actividad de las prostaglandinas o actuando como secuestrantes de radicales de oxígeno, disminuyendo de esta manera la respuesta inflamatoria, pudiendo ser estos compuestos: flavonoides y/u otros compuestos fenólicos (Saeed y col., 1995; Marrassini y col., 2011).

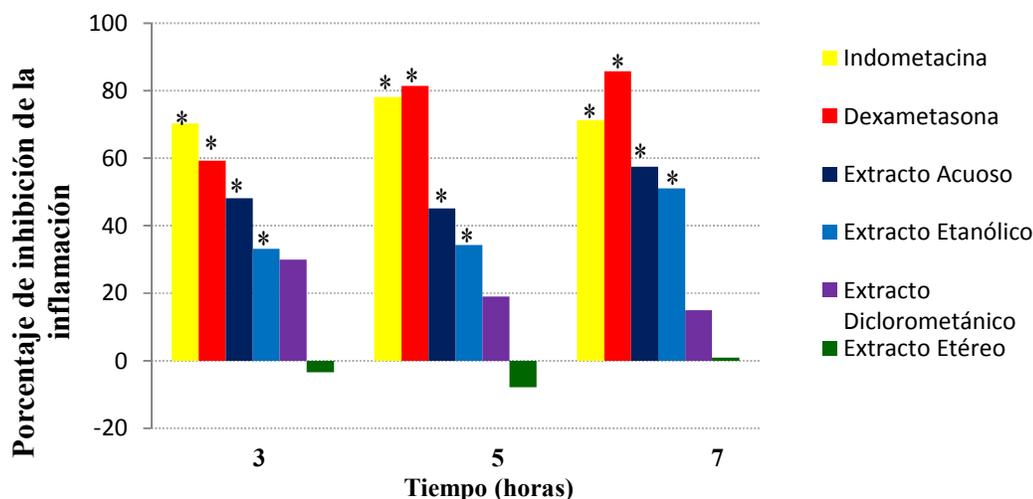


Figura 18. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para los diferentes extractos de *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.5.2. Análisis inter-especie del efecto antiinflamatorio de los extractos de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

El análisis practicado a los extractos de ambas especies vegetales, al cabo de tres horas de la administración del agente irritante (figura 19), evidenció un mayor efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *X. spinosum* L. que su par de *U. urens* L., y viceversa en los extractos acuosos. Esto muy probablemente esté relacionado con los resultados obtenidos *in vitro* del *screening* fitoquímico de ambas especies (apartado 4.3) donde el extracto etanólico de *U. urens* L. no registró la presencia de flavonoides a diferencia de su extracto acuoso.

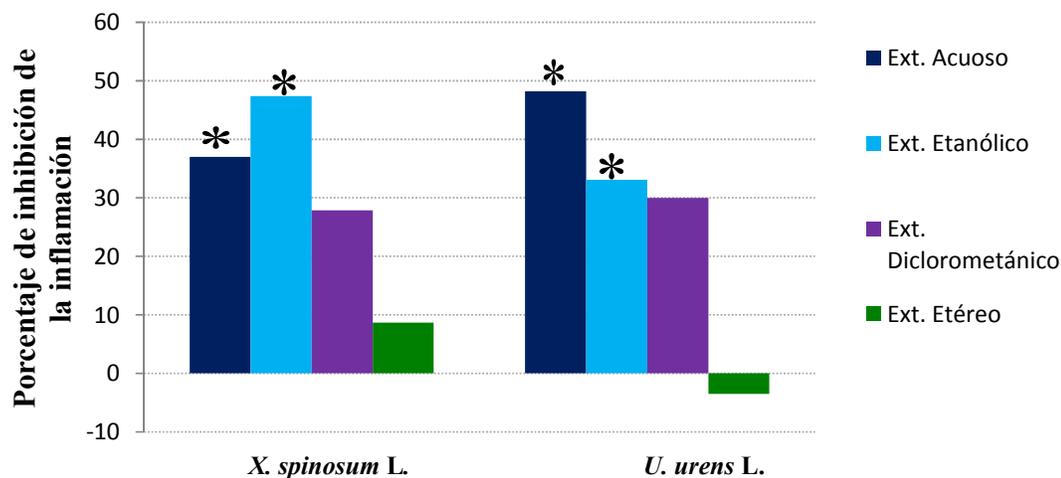


Figura 19. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 3 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

Por otra parte, la comparación del efecto antiinflamatorio de los extractos de ambas especies vegetales después de cinco horas de haber administrado el agente irritante (figura 20) mostró la misma tendencia para los extractos etanólico y acuoso, que a las tres horas de haber iniciado el proceso inflamatorio. Sin embargo, el extracto diclorometánico de *X. spinosum* L. mostró un efecto antiinflamatorio significativo a diferencia de su par de *U. urens* L., lo que sería un reflejo de lo observado en el

screening fitoquímico (apartado 4.3), donde se registra la ausencia de flavonoides en el extracto diclorometánico de *U. urens* L.

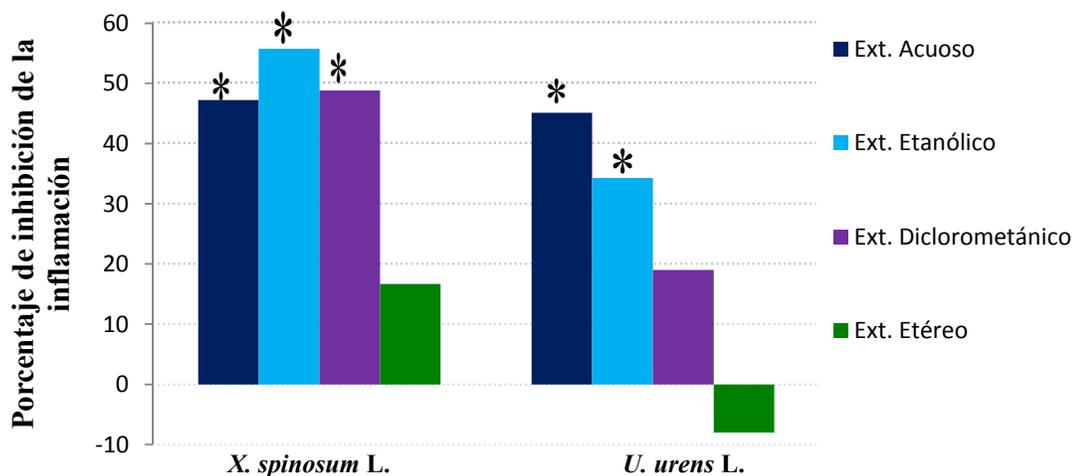
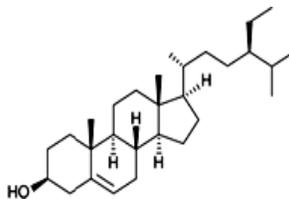


Figura 20. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 5 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

Finalmente, a las siete horas de haber administrado el agente irritante y los extractos de ambas especies vegetales en los ratones (figura 21), se puede apreciar un efecto de los extractos similar al registrado a las tres y cinco horas después de la administración de la carragenina, con una diferencia, que el extracto etéreo de *X. spinosum* L. manifestó un efecto antiinflamatorio significativo a diferencia que su par de *U. urens* L., lo que podría ser atribuible a la acción de β -sitosterol registrado por Salinas y col. en 1998 en la especie *X. spinosum* L.



β -sitosterol

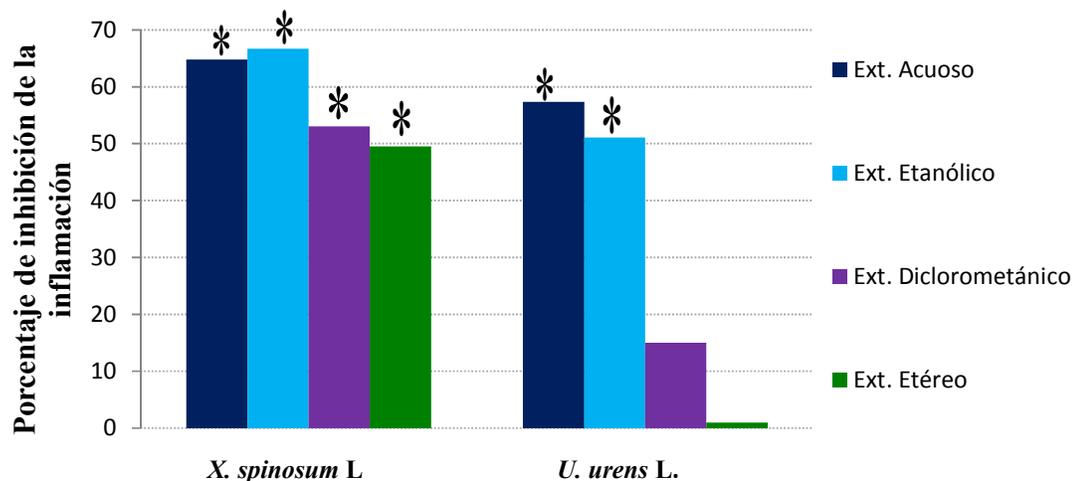


Figura 21. Inhibición de la inflamación de los extractos de las especies vegetales *X. spinosum L.* y *U. urens L.* a las 7 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.5.3. Estudio del efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos acuoso y etanólico de *Xanthium spinosum L.* y *Urtica urens L.*

El beneficio de la utilización de medicamentos combinados a menudo se suele dar por el resultado de las acciones sinérgicas de múltiples compuestos químicos activos que actúan en únicos o múltiples sitios asociados en procesos fisiológicos, en contraste con los productos químicos individuales (Tayler, 1999).

Considerando el mayor efecto antiinflamatorio de los extractos acuoso y etanólico, respecto de los demás, para ambas especies vegetales (registrado en el anterior apartado), se realizaron ensayos antiinflamatorios en ratones con dos combinaciones de los extractos acuosos y etanólicos de ambas especies vegetales.

4.5.3.1. Combinación 1:1 de extractos acuosos de *Xanthium spinosum L.* y *Urtica urens L.*

Para estudiar el efecto de la combinación de estos extractos se administró a los animales de experimentación un combinado de 0,75 g de *X. spinosum L.* y 0,75 g de *U. urens L.* por kilogramo de peso corporal. En la figura 22, se puede observar que a las tres horas el

efecto antiinflamatorio fue leve, en tanto, que el efecto antiinflamatorio fue significativo ($p < 0,05$) tras cinco y siete horas de haberse administrado el agente irritante. Por otra parte, los estudios preliminares del efecto antiinflamatorio de estos extractos empleando una dosis de 0,75 g por kg de peso corporal no mostró efecto significativo alguno, sin embargo el empleo de estas dosis combinadas induciría la actuación sinérgica antiinflamatoria de estos extractos hasta alcanzar valores significativos.

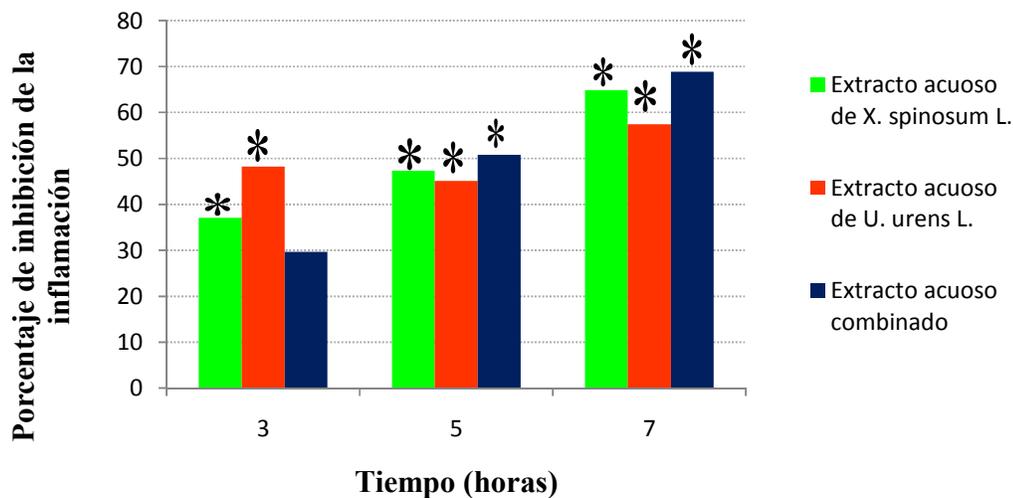


Figura 22. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para el extracto acuoso de *X. spinosum* L., el extracto acuoso de *U. urens* L. y el extracto combinado acuoso de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.5.3.2. Combinación 1:1 de extractos etanólicos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio de la administración de un combinado de estos extractos se utilizó 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kilogramo de peso corporal. En la figura 23, se puede observar que el combinado de extractos tuvo un efecto antiinflamatorio significativo ($p < 0,05$) a las tres, cinco y siete horas del proceso inflamatorio. Al igual que en el caso de los extractos acuosos, los estudios preliminares del efecto antiinflamatorio de estos extractos empleando una dosis de 0,75

g por kg de peso corporal no mostró efecto significativo alguno, sin embargo el empleo de estas dosis combinadas induciría la actuación sinérgica antiinflamatoria de estos extractos hasta alcanzar valores significativos.

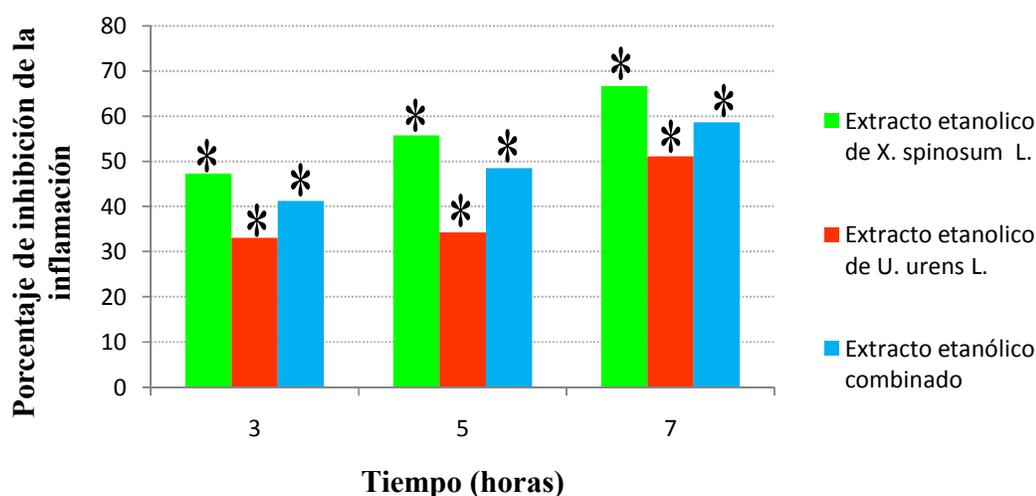


Figura 23. Inhibición de la inflamación de las patas de los ratones para el extracto etanólico de *X. spinosum* L., el extracto etanólico de *U. urens* L. y el extracto combinado etanólico de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.6. Estudio de la actividad analgésica

De manera general, los medicamentos antiinflamatorios presentan también efectos analgésicos, razón por la que los estudios de actividad antiinflamatoria se complementan con estudios de actividad analgésica. Para la presente investigación se evaluó el efecto analgésico de los distintos extractos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. empleando la técnica de inducción de contorsiones abdominales con ácido acético en ratones, de acuerdo a la metodología recogida en el apartado 3.6.2.1.

4.6.1. Inducción de contorsiones con ácido acético

Se ha reportado que el ácido acético es un promotor de hiperalgesia, por causar la liberación de sustancias endógenas como las prostaglandinas, leucotrienos, 5-HT, histamina, cininas, H^+ , K^+ que han sido implicadas en la medición de la percepción del

dolor (Amico y col., 1984; Forth y col., 1986; Rang y col., 1999). Por tanto, las inyecciones de ácido acético generan cuadros de dolor.

De acuerdo con los resultados de la figura 24, la administración de todos los extractos de *X. spinosum* L. registraron un efecto analgésico de moderado a alto, siendo el extracto diclorometánico el que mostró una mayor inhibición de las contorciones abdominales producidas por el dolor. La inhibición significativa del número de contorciones en los ratones ($p < 0,05$) podría deberse a la acción de los flavonoides de los extractos administrados sobre los receptores peritoneales y a la interferencia en el mecanismo de transducción en los nociceptores aferentes mediante la reducción de la síntesis de prostaglandinas a nivel periférico relacionado con el sistema de prostanoides (Nguemfo y col., 2007).

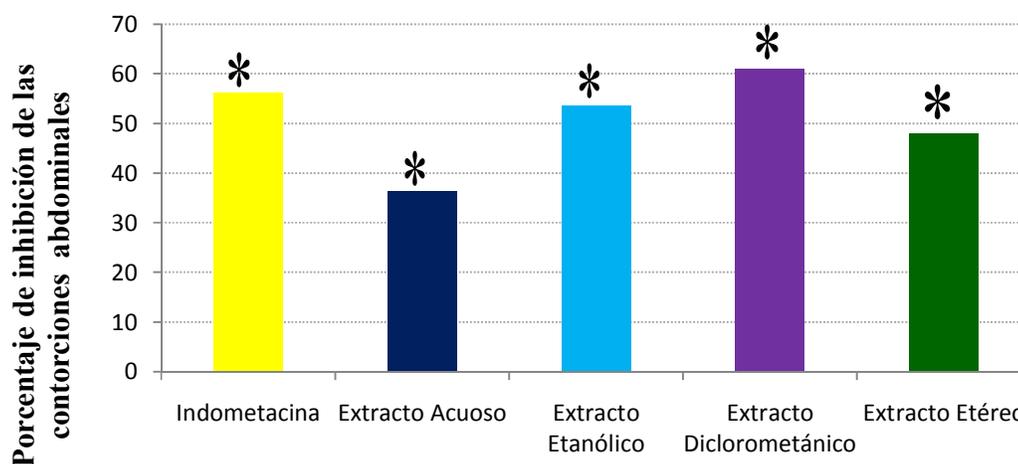


Figura 24. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de *X. spinosum* L.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

Al igual que en el caso anterior, el efecto analgésico de los distintos extractos de *U. urens* L. (figura 25) fue significativo frente al control positivo ($p < 0,05$) y, atribuible a las mismas razones que para *X. spinosum* L.

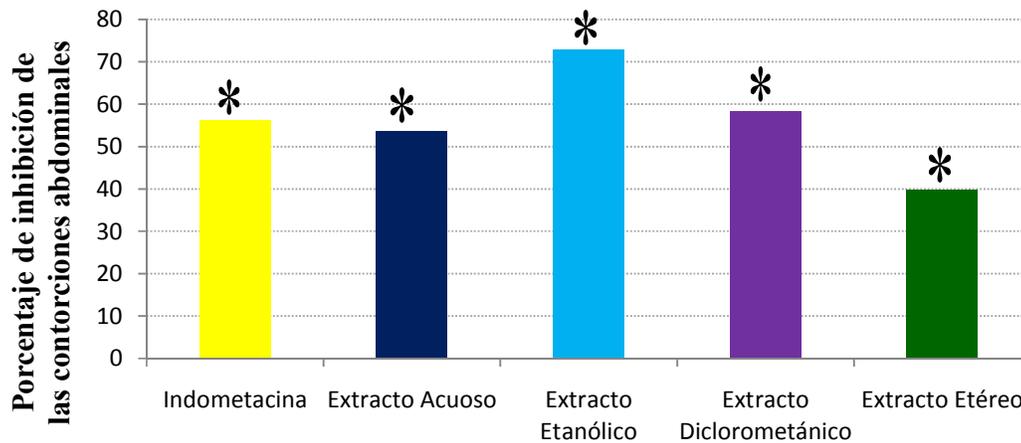


Figura 25. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de *U. urens* L.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.6.2. Estudio del efecto analgésico de la combinación de los extractos acuosos y etanólicos de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Considerando los resultados obtenidos en el estudio del efecto analgésico de los diferentes extractos se eligieron los extractos acuoso y etanólico de las dos especies vegetales, cuyo efecto analgésico y antiinflamatorio fue significativo ($p < 0,05$).

4.6.2.1. Combinación 1:1 de extractos acuosos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Para estudiar el efecto analgésico de la combinación de estos extractos se administró a los animales de experimentación un combinado de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kilogramo de peso corporal. En la figura 26, se puede apreciar que el extracto combinado presenta un efecto analgésico mayor que el extracto de *U. urens* L. y a su vez mucho mayor que el de *X. spinosum* L. lo que indicaría que la acción de los componentes químicos de *U. urens* L. potencian la actividad analgésica de *X. spinosum* L.

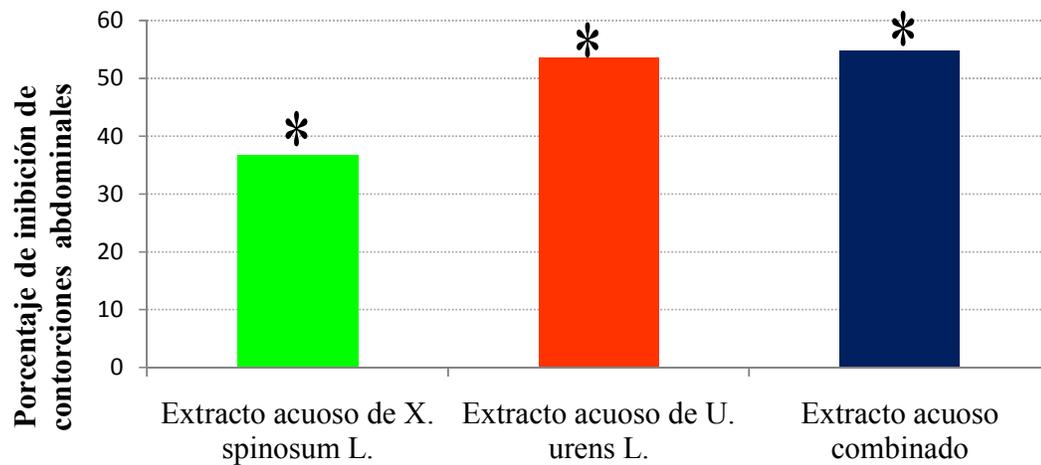


Figura 26. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en ratones para el extracto acuoso combinado de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

4.6.2.2. Combinación 1:1 de extractos etanólicos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

De manera similar al caso anterior el estudio del efecto analgésico de la combinación de estos extractos se realizó administrando a cada ratón un combinado de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kilogramo de su peso corporal. En la figura 27, se observa que el extracto combinado presenta un efecto analgésico bajo y no significativo (20,8%) respecto de los extractos administrados individualmente (53,5% para *X. spinosum* L. y 72,8% para *U. urens* L.). Esto sería atribuible a que los componentes químicos de cada extracto actúan sobre distintos receptores del dolor, ya sea inhibiendo la liberación de prostaglandinas o ciclooxigenasas en tejidos periféricos.

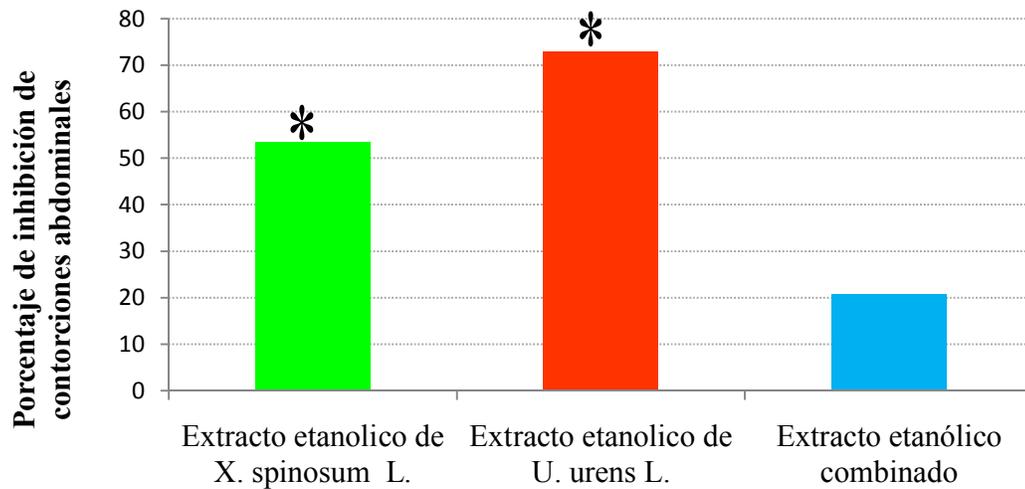


Figura 27. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos etanólicos combinados de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.

* Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

Los resultados obtenidos en los ensayos antiinflamatorios y analgésicos permitirían validar de alguna manera, la utilización de las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. como remedios tradicionales para el tratamiento de procesos inflamatorios y algésicos y, sugerir una actividad sinérgica entre ambas especies vegetales.

5. CONCLUSIONES

5. Conclusiones.

1. El Herbario Nacional de Bolivia autentificó las especies vegetales recolectadas en la provincia Ingavi de la ciudad de La Paz como *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.
2. Siguiendo la metodología establecida en la Real Farmacopea Española, para las especies vegetales, se ha determinado en *Xanthium spinosum* L. los elementos celulares y no celulares que caracterizan a esta especie, además de los parámetros de calidad como la humedad 7,78%, cenizas totales 13,59%, cenizas ácidas 5,97%, cenizas solubles en agua 5,22%, elementos extraños 0,6%, índice de hinchamiento 8mL. De *Urtica urens* L. también se determinaron los elementos celulares y no celulares que la caracterizan, los parámetros de calidad determinados fueron humedad 2,59%, cenizas totales 24,78%, cenizas ácidas 2,23%, cenizas solubles en agua 6,34%, elementos extraños 0,5%, índice de hinchamiento 17mL.
3. El *screening* fitoquímico realizado a los extractos etéreo, diclorometánico, etanólico y acuoso de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. reveló una importante presencia de flavonoides, esteroides, taninos, alcaloides y compuestos reductores en ambas especies vegetales.
4. Se elaboró el perfil cromatográfico para los extractos etéreo, diclorometánico, etanólico y acuoso diferentes de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.
5. Los extractos acuoso y etanólico de *X. spinosum* L. presentaron una inhibición máxima de la inflamación de 64,8% y 66,7% respectivamente. El extracto acuoso de *U. urens* L. presentó una inhibición de 57,4% y su extracto etanólico un 51,1% de inhibición. Estos extractos poseen un potente efecto antiinflamatorio y analgésico respecto de la indometacina.
6. La administración en ratones de una combinación de los extractos acuosos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. muestra un significativo efecto antiinflamatorio y analgésico, con una inhibición de la inflamación de 68,9% y una inhibición de la algesia de 54,8%, en tanto que la combinación de los extractos etanólicos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. presenta sólo efecto antiinflamatorio, con una inhibición de la inflamación de 58,6%.

6. RECOMENDACIONES

6. Recomendaciones

Completar los estudios farmacológicos y toxicológicos que permitan hacer una valoración general del uso de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. en patologías relacionadas con procesos inflamatorios.

Realizar procesos de purificación que permitan el aislamiento y caracterización de los compuestos mayoritarios presentes en los extractos de las especies vegetales que presentaron un mayor efecto antiinflamatorio. Asimismo, realizar los procesos de purificación para el aislamiento de los compuestos presentes en los extractos combinados.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

Abdei M, Dawidar A, Metwally M, Abou M (1991). Xanthanolides from *Xanthium spinosum*. *Phytochemistry*, 30 (10): 3461-3462.

Abdin MZ, Izrar M, U RR, Jain SK (2003). Artemisinin, a Novel Antimalarial Drug: Biochemical and Molecular Approaches for Enhanced Production. *Planta Med*, 69: 289–299.

Ahmed A, Jakupovic J, Bohlmann F, Regaila H (1990). Sesquiterpene lactones from *Xanthium pungens*. *Phytochemistry*, 29 (7): 2211-2215.

Aishan H, Baba M, Iwasaki N, Kuang H, Okuyama T (2010). The constituents of *Urtica cannabina* used in Uighur medicine. *Pharm Biol*, 48(5):577-583.

Alaattin S, Barbaros S, Hizlan H, Agus M, Bayav H, Sevim A (2007). Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity by *Urtica urens* in Rats *Journal of Applied Biological Sciences*, 1 (3): 29-32.

Alain J, Pierre-Olivier G, Antoine P, Karelle F, Laurent M, Nicholas M (2009). Phytalgic®, a food supplement vs placebo in patients with osteoarthritis of the knee or hip: a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial. *Arthritis Research & Therapy*, 11: 192.

Amico-roxas M, Caruso A, Trombadore S, Scifo R, Scapagini U (1984). Gangliosides antinociceptive effects in rodents. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther*, 272: 103– 117.

Ammar N, Fournier G, Wassel G, Shabana M, Shabana M (1992). A study of the volatile oil content of *Xanthium pungens*, compositae. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 5(2): 79-80.

Anjoo K, Ajay K (2010). Phytopharmacological review of *Xanthium strumarium* L. (Cocklebur). *Int J Green Pharm*, 4(3): 129-139.

Arrázola S, Atahuachi M, Saravia E, Lopez A (2002). Diversidad florística medicinal y potencial Etnofarmacológico de las plantas de los valles secos de Cochabamba–Bolivia. *Rev. Bol. Ecol*, 12: 53 – 85.

Ball P (1964). *Urtica* L. *Flora Europa* in T. G. Tutin. University Cambridge Press, 1: 67-68.

Basaran A, Yu T, Plewa M, Anderson D (1996). An investigation of some Turkish herbal medicines in *Salmonella typhimurium* and in the COMET assay in human lymphocytes. *Teratog. Carcinog. Mutagen*, 16: 125–138.

Berges R, Windeler J, Trampisch H, Senge T (1995). Randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial of beta-sitosterol in patients with benign prostatic hyperplasia. Beta-sitosterol Study Group *Lancet*, 345: 1529-1532.

Blumenthal M, Busse W, Goldberg A, Gruenwald J, Hall T, Riggins C, Rister R, (1998). The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic Guide to Herbal Medicines. American Botanical Council, Austin Texas. Integrative Medicine Communications, Boston Massachusetts, p 216.

Bnouham M, Merhfour FZ, Ziyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74(7-8):677-81.

Boelcke O, Vizini A (1987). Plantas vasculares de la Argentina, nativas y exóticas. Ilustraciones Volumen II. Dicotiledóneas-Arquiclamídeas de Casuarináceas a Leguminosas. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 58 p.

Bombardelli E, Morazzoni P (1997). *Urtica dioica* L. *Fitoterapia*, 67: 387–402.

Brinker F (1998). Herb contraindications and drug interactions. Eclectic Medical Publications. USA.

British Pharmacopoeia (2004). London: Her Majesty's Stationery Office.

Bruneton J (1999). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2ª ed. Barcelona: Acribia.

Bucci M, Roviezzo F, Posadas I, Yu J, Parente L, Sessa W, Ignarro L, Cirino G (2005). Endothelial nitric oxide synthase activation is critical for vascular leakage during acute inflammation in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 102, 904–908.

Burkart A (1987). Flora Ilustrada de Entre Ríos, 3rd ed. Sudamericana: Buenos Aires Argentina.

Cabrera L. y Villaseñor J (1987). Revisión bibliográfica sobre el conocimiento de la familia Compositae en México. *Biotica* 12:131–147.

Cañavate J (1995). Fitoterapia de la inflamación. *Natura Medicatex*, 37-38:80-85.

Campbell W, Halushka P (1996). Autacóides derivados dos lípidos. Eicosanóides e factor activador plaquetario. En: Goodman A. As Bases Farmacológicas da terapêutica. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Rio de Janeiro, p.438-49.

Chaturvedi S (2001). A new flavone from *Urtica dioica* roots. Acta Cienc. Indic Chem, 27: 17.

Chávez Juan (1999). Plantas medicinales en atención primaria de salud. 1ª ed. Lima. IICA.

Chirigui L, Tita T, Radi S, Capitanescu C (2003). Content of metal in the sedes of *Xanthium spinosum* and *Xanthium italacum*. Fitoterapia, 74 (1-2): 168-9.

Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik SA (2007a). A comprehensive review on nettle effect and efficacy profiles, Part I: Herba *urticae*. Phytomedicine, 14: 423-435.

Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik SA (2007b). A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: *Urticae* radix. Phytomedicine, 14: 568-579.

CYTED (1995). Manual de técnicas de investigación. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos en Plantas de la Región. Subprograma X. Química Fina Farmacéutica. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, 81-98.

Coleman R, Smith W, Narumiya S (1994). Internatinal Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution and structure of the receptors and their subtypes. Pharmacol. Rev, 46: 205-29.

Collier H, Chesher G (1956). Identification of 5-hydroxytryptamine in the sting of the Nettle (*Urtica dioica*). Brit. J. Pharmacol, 11:186.

Collier H, Dinnin L, Johnson C, Schneider C (1968). The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br J Pharmacol Chemother, 32: 295–310.

Cotran R, Kumar V, Collins T (2000). Robbins, Patología Estructural y Funcional. Sexta edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid-España

Cronquist A (1981). An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia Univ. press.

Cronquist A (1989). An Integrated System of Clasification of Flowering Plants. Columbia University Press, Nueva York.

Cumanda G, Marinoni, De Bernardi M, Vidari G, Vita F (1991). New sesquiterpenes from *Xanthium catharticum*. *J. Nat. Prod*, 54 (2): 460-465.

Cunha T, Verri J, Silva J, Poole S, Cunha F, Ferreira S (2005). A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102:1755–1760.

Davis (1982). Townsend C. Urticaceae, Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University Edinburgh Press, 7:633-638.

Díaz García G (2002). Evaluación del efecto genotóxico del *Xanthium strumarium* [tesis de maestría]. Instituto Superior de Ciencias Médicas.

Di Rosa M, Giroud J, Willoughby D (1971). Estudios of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carraggenan and turpentine. *Journal of Pathology*, 104: 15-29.

Dong KK, Chang KS, Dong WB, Yeon SK, Min-Suk Y, He KK (2002). Identification and biological characteristics of an antifungal compound extracted from Cocklebur (*Xanthium Strumarium*) against *Phytophthora drechsleri*. *The plant pathology J*, 18:288-92.

Emmelin N, Feldberg W (1949). Distribution of acetylcholine and histamine in nettle plants. *New Phytol*, 48: 143-148.

Endalkachew N, Mahamoud Y, Luise K, Michael W (2011). Biological Activities of *Xanthatin* from *Xanthium strumarium* Leaves. *Phytother Res*, 25: 1883–1890.

ESCOP Monographs (2003). The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. 2^a ed. Thieme. Stuttgart, 521-527.

Esplugues I, Barrachina M (2004). Mediadores celulares Inflamación e inmunidad. En: Flórez J. *Farmacología humana*. 5ta Edición. Ediciones Masson, SA. Barcelona, 347-51.

Estrella E (1994). *Plantas medicinales amazónicas*. 1^a ed. Lima: PNUD.

Farahnaz N, Fereshteh E, Zohreh H, Tahereh F (2004). Anti-*Helicobacter pylori* Activities of Six Iranian Plants. Blackwell Publishing Ltd, *Helicobacter*, 9: 146–15.

Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin FJ, Khaghani Sh (2003). Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of

Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 89(1): 47-53.

Farmacopea Alemana (Deutsches Arzneibuch - DAB 10, 1993).

Farmacopea Britanica (BHP) (BHP 1996), British Herbal Compendium (Bradley 2006).

Feng BM, Qin HH, Wang HG, Shi LY, Yu DY, Ji BQ, Zhao Q, Wang YQ (2011). Three new secolignan glycosides from *Urtica fissa* E. Pritz. *J Nat Med*.

Feng B, Yan X, Wang H, Shi L, Tang L, Wang Y (2010). Two new secolignan glycosides from the roots of *Urtica triangularis* Hand. Mazz. *Fitoterapia*, 81(6):607-9.

Feria M (2004). Analgésicos antitermicos no esteroideos. Antiartríticos. En: Flórez J. *Farmacología humana*. 5ª ed. Ediciones Masson, SA. Barcelona, 375-81.

Fernández C, Jimenez D, Siñani B, Gutierrez M, Mamani C, Choquehuanca S, Apaza L, González E, Bermejo P (2008). Evaluación de la actividad gastroprotectora y genotóxica del extracto hidroalcohólico de *Xanthium spinosum*. En: Primer Encuentro de Plantas Medicinales. Bolivia. Prisa, 41.

Fernandez J, Olano I, Vasquez A, Ferreire F, Bassagod M, Vero S, Soubes M, Cerdeiros M (1993). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales uruguayas. En: Libro de ponencias: VIII Simposio de Farmacobotánica. Uruguay.

Forth W, Peter K. (1986). The relief of pain. Hoechst medication Up-Date. *Hoechst*, Munich, 6-107.

Florence J, Adeolu A, Adamu A, Anthony A (2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae) *Rev. Biol. Trop. Int. J. Trop. Biol*, 58 (4): 1517-1531.

Floréz J (1997). *Farmacología Humana*. Masson S. A., Barcelona.

Fürst S (1999). Transmitters involved in antinocicepción in the spinal cord. *Brain Res. Bull*, 48: 129-141.

García A, Morales R, Porta M, Rubio E, Ochoa J (2000). Superoxide dismutase and Naproxen ® in the very late phase of carrageenan induced edema in rats. *La Revista de Investigación Clínica*, 52 (2): 156-159.

Garcia Le, Martinez MP, Gonzalez HL (2001). Inflamación y Dolor: Cambios en el Sistema Nervioso Periférico y central. *MEDUNAB*; 4(10).

Ghani A (2003). Medicinal Plants of Bangladesh. The Asiatic Society of Bangladesh, 430: 502-504.

Ghafari S, Balajadeh BK, Golalipour MJ (2011). Effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) on testicular tissue in STZ-induced diabetic rats. Pak J Biol Sci, 14(16): 798-804.

Gimenéz A (1997). Corticosteroides tópicos (I): desarrollo, mecanismo de acción, farmacología. Rev. Act. Dermatolog, 7: 405-508.

Giraoult L (1987). Kallawaya. 1ªed. La Paz: Unicef- OPS-OMS.

Golalipour MJ, Khori V (2007). The protective activity of *Urtica dioica* leaves on blood glucose concentration and beta-cells in streptozotocin-diabetic rats. Pak J Biol Sci, 10(8):1200-4.

Golalipour MJ, Ghafari S, Afshar M (2010). Protective role of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) extract on hepatocytes morphometric changes in STZ diabetic Wistar rats. Turk J Gastroenterol, 21(3):262-9.

Goldbach-Mansky Rin (2006). American College of Rheumatology Proceedings of 2006 Annual Meeting, Washington, DC, November 10–15, 2006, Lockshin M.D. (ed.). Overland Park, Kansas (USA): Tri-Star Publishing, Inc.

Gorzalczany S, Marrassini C, Miño J, Acevedo C, Ferraro G (2011). Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. J Ethnopharmacol, 134(3): 733-8.

Gupta M, Mazumder UK, Gomathi P, Thamil S (2006). Antiinflammatory evaluation of leaves of *Plumeria acuminata*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:36.

Gulsel M (2003). Kavalali. Therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles. 1ª ed. New York. Taylor & Francis Ltd.

Gupta M (1995). 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. 1ª ed. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello.

Gupta M (1996). 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. CYTED-UNESCO. Colombia.

Guyton A, Hall J (2006). Resistance of the body to infection; En: Guyton A, Hall J. Textbook of medical Physiology. Elsevier-Saunde, 429-36.

Han T, Li H, Hu Y, Zhang Q, Zheng H, Rahman K, Qin L (2006). Phenolic acids in Fructus *Xanthii* and determination of contents of total phenolic acids in different species and populations of *Xanthium* in China. J. Chin. Integr. Med, 4 (2): 194-8.

Han T, Li HL, Zhang QY, Han P, Zheng HC, Rahman K, Qin LP (2007). Bioactivity-guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of *Xanthium strumarium* L. Phytomedicine, 14(12): 825-9.

Heller A, Koch T, Schmeck J, Acker VK (1998). Lipid mediators in inflammatory disorders. Drugs, 55:487-496.

Henriques M, Silva P, Martins M, Flores C, Cunha F, Assreuy-Filho J, Cordeiro R (1987). Mouse paw edema. A new model for inflammation? Braz. J. Med. Biol. Res, 20: 243–249.

Hess H. E., Landolt E, Hirzel R (1967). Flora der Schweiz, Birkhäuser Verlag. Basel and Stutugart, 705-708.

Herrera V, Loza R, Limachi G, Ocaña C, Cahmbilla B, Arias J, Gonzales E, Bermejo P (2008). Evaluación preliminar de la toxicidad de *Urtica urens*. 1º Encuentro de plantas medicinales en Bolivia. Noviembre. UMSA- UCM.

Hizlan A, Pelin T, Merve B, Asli S, Alaattin S (2009). Drug Interaction Potential of the Seed Extract of *Urtica urens* L. (Dwarf Nettle). Phytother. Res, 23: 1763–1770.

Hou WR, Su ZQ, Pi HF, Yao GM, Zhang P, Luo X, Xie SN, Xiang M (2010). Immunosuppressive constituents from *Urtica dentata* Hand. J Asian Nat Prod Res, 12(8):707-13.

Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W (1995). The effect of extracts of the roots of the stinging nettle (*Urtica dioica*) on the interaction of SHBG with its receptor on human prostatic membranes. *Planta Med*, 61:31-32.

Ianaro A, O'Donnell C, Di Rosa M, Liew F (1994). A nitric oxide synthase inhibitor reduces inflammation, downregulates inflammatory cytokines and enhances interleukin-10 production in carrageenin-induced oedema in mice. Immunology, 82, 370–375.

In-Tae KIM, Young-Mi Park, Jong-Heon Won, Hyun-Jung, Hee-Juhn Park, Jong-Won Choi, Kyung-Tae Lee (2005). Methanol Extract of *Xanthium strumarium* L. possesses Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities. Biol. Pharm. Bull, 28(1): 94-100.

Instituto Nacional de Estadística Bolivia INE (2012).

Ilhami G, Irfan K, Münir O, Mehmet E (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 205–215.

Irving R, Yaoge H, Robert A, Ronald G, Branka B (2007). *Xanthatin* and *xanthinosin* from the burs of *Xanthium strumarium* L. as potential anticancer agents. *Can. J. Physiol. Pharmacol*, 85: 1160–1172.

Islam MR, Uddin MZ, Rahman MS, Tutul E, Rahman MZ, Hassan MA, Faiz MA, Hossain M, Hussain M, Rashid MA (2009). Ethnobotanical, phytochemical and toxicological studies of *Xanthium strumarium* L. *Bangladesh Med Res Counc Bull*, 35(3):84-90.

Itzik Alejandro (2006). *Las plantas curativas*. Grupo arquetipo editorial Uruguay, p: 124.

Jahanshahi M, Golalipour MJ, Afshar M (2009). The effect of *Urtica dioica* extract on the number of astrocytes in the dentate gyrus of diabetic rats. *Folia Morphol (Warsz)*, 68(2):93-7.

Jail S, Bozhanka M, Rilka T, Maya (2003). *In vitro* Anti-inflammatory Effect of *Carthamus lanatus* L. *Z. Naturforsch*, (58c): 830-832.

Jares E, Pignataro O (2002). Mecanismos moleculares de acción de los corticoides. *Rev AAIC*, 31:1.

Jeong Y, Hyo L, Hwa L, Hee K, Raok J, Jae-Ha R (2008). Inhibition of lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by xanthanolides isolated from *Xanthium strumarium*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8(6): 2179-2182.

Jimenez D, Gutierrez M, Fernández C, Siñani B, Mamani C, Choquehuanca S, Apaza L, Gonzáles E, Bermejo P (2008). Evaluación de la actividad gastroprotectora y genotóxica del extracto hidroalcohólico de *Xanthium spinosum*. En: *Primer Encuentro de Plantas Medicinales*. Bolivia. Prisa, 41.

Joseph Seckbach, Zvy Dubinsky. (2009). *All flesh is grass: Plant-Animal Interrelationships*. Springer, 313.

Judd W, Campbell C, Kellogg E, Stevens P, Donoghue M (2002). *Plant Systematics: a Phylogenetic Approach*. 2a ed, Massachusetts.

Kanter M, Coskun O, Budancamanak M (2005). Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and

liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenterol*, 11(42):6684-6688.

Kar HK, Langar S, Arora TC, Sharma P, Raina A, Bhardwaj M (2009). Occurrence of plant sensitivity among patients of photodermatoses: a control-matched study of 156 cases from New Delhi. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 75 (5): 483-7.

Kavtaradze N (2003). Phenolic compounds from *Urtica urens* growing in Georgia *Chemistry of natural compounds*, 39(3):314.

Kavalali G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi H (2003). Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84: 241-245.

Lapinskaya E, Ya. F. Kopyt'ko (2008). Composition of the lipophilic fraction of stinging nettle (*Urtica dioica* L. and *U. urens* L.) homeopathic matrix tinctures *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42 (12): 26 – 29.

Laupattarakasem P, Wangsrimongkol T, Surarit R , Hahnvajanawong C (2006). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3): 349–354.

Laura F, Alejandra M, Graciela W, Eduardo B, Oscar G, Lilian P, Carlos T (2005). Anti-ulcerogenic activity of xanthanolide sesquiterpenes from *Xanthium cavanillesii* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3): 260–267.

Lawrence G. H. M (1951). *Taxonomy of Vascular Plants*. New York. The Macmillan Company, pg: 464-465.

Lee BH, Yoon SH, Kim YS, Kim SK, Moon BJ, Bae YS (2008). Apoptotic cell death through inhibition of protein kinase CKII activity by 3, 4-dihydroxybenzaldehyde purified from *Xanthium strumarium*. *Nat Prod Res*, 22(16):1441-50.

Levy L. (1969). Carrageenan paw edema in the mouse. *Life Sci.*, 8, 601–606

Lin Yun-Lian, Chang Chia Chuan, Lee I-Jung (2008). Review on phytochemical study of asteraceae in Taiwan. *Chin. Med*, 19(3/4):135-149.

Li Y, Wang YL, Li L, Liu L, Lu YX, Cheng XC, Zhang QL (2009). Structural characterization of polysaccharides from the roots of *Urtica fissa*. *J Asian Nat Prod Res*, 11: 951-957.

Lucca M, Jaime Z (1992). *Flora Medicinal boliviana*. Diccionario enciclopédico. Los amigos del Libro.

Ma Y, Huang M, Hsu F, Chang F (1998). Thiazinedione from *Xanthium strumarium*. *Phytochemistry*, 48: 1083–1085.

Mandal SC, Boominathan R, Devi BP, Panda S (2005). Studies on anti-tussive activity of *Xanthium Strumarium* L. extract. *ISHS Acta Horticulturae* 678: III WOCMAP congress on Medicinal and Aromatic Plants- vol.4: Targeted Screening of Medicinal and Aromatic Plants, Economics and law, 678:149-52.

Marjan N, Farzaneh Z, Esmail A, Mohammas D, Amir-Abdollah Z (2009). Effects of *Urtica dioica* extract on lipid profile in hypercholesterolemic rats. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 7(5): 428-433.

Marrassini C, Davicino R, Acevedo C, Anesini C, Gorzalczy S, Ferraro G. Vicenin-2 (2011). A potential anti-inflammatory constituent of *Urtica circularis*. *J Nad Prod*, 74(6):1503-7.

Marrassini C, Acevedo C, Miño J, Ferraro G, Gorzalczy S (2010). Evaluation of Antinociceptive, Antiinflammatory Activities and Phytochemical Analysis of Aerial Parts of *Urtica urens* L. *Phytother. Res*, 24: 1807–1812.

Masvingwe C, Maveyengwa M (1998). Toxicological evaluation of the plant *Xanthium strumarium* in pigs in Zimbabwe. *J. Venom Anim. Toxins*, 4 (2):113-119.

Ming-Hsing H, Bor-Sen W, Chuan-Sung C, Sakae A, Wen-Tsong H, Shyh-Shyun H, Pei-Hsin S, Guan-Jhong H (2011). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii* Fructus extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2): 545–552.

Mittman P (1990). Randomized, double-blind study of freeze-dried *Urtica dioica* in the treatment of allergic rhinitis. *Planta Med*, 56: 44-47.

Mi-Young Song, Eun-Kyung Kim, Heon-Jae Lee, Jin-Woo Park, Do-Gon Ryu, Kang-Beom Kwon, Byung-Hyun Park (2009). *Fructus Xanthii* extract protects against cytokine induced damage in pancreatic β -cells through suppression of NF-kB activation *International Journal of Molecular Medicine*, 23: 547-553.

Mengyue W, Ke Li, Yuxiao N, Yingfang W, Xiaobo Li (2011). Antirheumatoid Arthritis Activities and Chemical Compositions of Phenolic Compounds-Rich Fraction from *Urtica atrichocaulis* an Endemic Plant to China. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 10.

Morris CJ (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol Biol*, 225:115-12.

Mossad A, Said A, Huefner A (2005). NMR and radical scavenging activities of patuletin from *Urtica urens* against aflatoxin B₁. *Pharm Biol*, 42 (6), 515.

Mostacero J, Mejía F (1998). *Taxonomía de Fanerógramas peruanas*. 1^a ed. Lima: Concytec.

Nandakishore T, Pasricha JS (1994). Pattern of cross-sensitivity between 4 Compositae plants, *Parthenium hysterophorus*, *Xanthium strumarium*, *Helianthus annuus* and *Chrysanthemum coronarium*, in Indian patients, 30(3):162-7.

Namazi N, Tarighat A, Bahrami A (2012). The effect of hydro alcoholic nettle (*Urtica dioica*) extract on oxidative stress in patients with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *Park J Biol Sci*, 15(2):98-102.

Nguemfo E, Dimo T, Azebaze A (2007). Antiinflammatory and antinociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* Staner L.C. (Guttiferae). *J Ethnopharmacol*, 114: 417–424.

Newman D, Gordon M (2007). Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J. Nat. Prod (Maryland)*, 70:461-477.

Nour AM, Khalid SA, Kaiser M, Brun R, Abdallah WE, Schmidt TJ (2009). The antiprotozoal activity of sixteen asteraceae species native to Sudan and bioactivity-guided isolation of xanthanolides from *Xanthium brasiliicum*. *Planta Med*, (12):1363-8.

Okoli C, Akah P, Ezugworie U (2005). Anti-inflammatory activity of extracts of root bark of *Securidaca longipedunculata* FRES (*Polygalaceae*) *Afr. J. Trad. CAM*, 2(3):54-63.

Ozen T, Cöllü Z, Korkmaz H (2010). Antioxidant properties of *Urtica pilulifera* root, seed, flower, and leaf extract. *J Med Food*, 13(5):1224-31.

Ozkarsli M, Sevim H, Sen A (2008). In vivo effects of *Urtica urens* (dwarf nettle) on the expression of CYP1A in control and 3 methylcholanthrene-exposed rats *Xenobiotica*, 38: 48–61.

Ozkol H, Musa D, Tuluçe Y, Koyuncu I (2011). Ameliorative influence of *Urtica dioica* L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Drug Chem Toxicol*.

Pavone C, Abbadessa D, Tarantino ML, Oxenius I, Laganà A, Lupo A, Rinella M (2010). Associating *Serenoa repens*, *Urtica dioica* and *Pinus pinaster*. Safety and efficacy in the treatment of lower urinary tract symptoms. Prospective study on 320 patients. *Urología*, 77(1):43-51.

Perez E (1996). Plantas útiles de Colombia. DAMA, Fondo FEN, Jardín Botánico José Celestino Mutis. 5ª Ed. Bogotá: 738-739.

Petcu P, Andronescu E, Petrisor G (1980). Treatment of adenoma of the prostate and of adenomectomy sequelae with *Xanthium spinosum* L. Bucharest, 28: 217-221.

Piacente S, Pizza C, De Tommasi N, De Simone F (1996). Sesquiterpene and diterpene glycosides from *Xanthium spinosum*. Phytochemistry, 41(5): 1357-1360.

Pinelli P, Ieri F, Vignolini P, Bacci L, Baronti S, Romani A (2008). Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica* L. J Agric Food Chem, 56(19):9127-32.

Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, Cirino G. (2004). Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. Br. J. Pharmacol, 142, 331–338.

Prieto J, Martín F, Bader A, Morello I, Riós J (2002). Identification of a 5-LOX Inhibitor from *Xanthium spinosum*. En: Libro de Ponencias. 50th Annual Congress of the Society for Medicinal. Barcelona, p.56.

Qin L, Han T, Li H, Zhang Q, Zheng H (2006). A new thiazinedione from *Xanthium strumarium*. Fitoterapia, 77 (3): 245-246.

Randall C, Randall H, Dobbs F (2000). Randomized controlled trial of nettle sting for treatment of base-of-thumb pain. *J R Soc Med*, 93:305-309.

Rang H, Dale M, Ritter J (1999). Pharmacology. Churchill Livingstone, 5th ed.

Raskin I, Ribnicky D, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N (2002). Plants and human health in the twenty-first century. Trends Biotechnol, 20(12): 522–531.

Real Farmacopea Española (2002). Métodos de farmacognosia. 2ª ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Roussakis H, Chinou CI, Vayas CJ (1994). Cytotoxic activity of *Xanthatin* and the crude extracts of *Xanthium strumarium*. Planta Med, 60:473-4.

Rzedowski J (1978). Claves para la identificación de los géneros de la familia *Compositae* en México. *Acta Científica Potosina*, 7:1–145.

Saeed A, El-Eraqy W, Ahmed Y (1995). Flavonoids of *Urtica urens* L. and biological evaluation. *Egypt J. Pharm*, 36: 1–6.

Safarinejad MR (2005). *Urtica dioica* for treatment of benign prostatic hyperplasia: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *J Herb Pharmacother*, 5(4):1-11.

Salinas A, Ruiz R, Ruiz S (1998). Esteroles, Flavonoides y Lactonas Sesquiterpénicas aisladas de *Xanthium spinosum* (L.) Cronquist (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaerense*, 17 (4): 297-300.

Salinas A, Barcia C, Lopez R, Ruiz S (2000). Antraquinonas del *Xanthium spinosum*. En: Libro de ponencias: I Congreso Internacional Fito 2000. Lima, p. 105.

Salinas A, Barcia C, Lopez R, Ruiz S (2000). Saponinas del *Xanthium spinosum*. En: Libro de Ponencias: I Congreso Internacional Fito 2000. Lima, p. 95

Sanjeev C, Upma B, Nisha V (2012). Antiplasmodial activity of *Xanthium strumarium* against *Plasmodium berghei*-infected BALB/c mice. *Parasitol Res*, 110:1179–1183.

Sato Y, Oketani H, Yamada T, Singyouchi K, Ohtsubo T, Kihara M, Shibata H, Higuti T (1997). A xanthanolide with potent antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol*, 49(10): 1042-4.

Serhan C, Savill J 2005. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat. Immunol*, 6: 1191-1197.

Schneider T, Rubben H (2004). Stinging nettle root extract (Bazoton-uno) in long term treatment of benign prostatic syndrome (BPS). Results of a randomized, double-blind, placebo controlled multicenter study after 12 months. *Urologe A*: 43: 302-306.

Schottner M, Gansser D, Spiteller G (1997). Lignans from the roots of *Urtica dioica* and their metabolites bind to human sex hormone binding globulin (SHBG). *Planta Med*, 63:529-532.

Sharapin (2000). Fundamentos de Tecnología de productos fitoterapéuticos. Santa Fé de Bogotá Colombia: Convenio Andrés Bello y Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del Subprograma X de CYTED.

Soriano J, Bess A, Sans M, Elizalde J (2000). Toxicología gastrointestinal por AINES. 8ª ed. España: Medicine.

Sosa A, Lopez R, Fusco M, Barcia C, Salinas A, Ruis S, Juarez A (2000). Estudio farmacológico preliminar de infusiones de *Xanthium spinosum* y de *Coronopus didymus*. En: Libro de ponencias: I Congreso Internacional Fito 2000. Lima, p. 157.

Soshnikova O, Ya V. Yatsuk, Chalyi G (2004). In: Collection of Scientific Works of Pyatigorsk GFA "Development, investigation, and marketing of a new pharmaceutical product," Pyatigorsk, 59: 216 – 217.

Stahi E (1969). "Thin Layer Chromatography". Spring-Verlag Berlin, Heidelberg.

State Administration of Traditional Chinese Medicine (1999). Composition of supercritical fluid extracts of some *Xanthium* species from china. Editorial Board of China Herbal. Shanghai: China Herbal.

Stefanello. (1993). Avaliação Estatística de plantas Mediciniais. [Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo].

Sugishita E., Amagaya S, Ogihara Y. (1981). Antiinflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. J. Pharmacobiodyn., 4, 565–575.

Süleyman Gül, Betül Demirci, Kemal Hüsni, H. Askin, Pinar Aksu (2012). Chemical Composition and In Vitro Cytotoxic, Genotoxic Effects of Essential Oil from *Urtica dioica* L. Springer Science+Business Media, 88:666–671.

Szentmihalyi K, Kéry A, Then M, Lakatos B, Sándor Z, Vinkler P (1998). Potassium–sodium ratio for the characterization of medicinal plant extracts with diuretic activity. Phytother Res, 12: 163–166.

Takeda S, Matsuo K, Yaji K, Okajima-Miyazaki S, Harada M, Miyoshi H, Okamoto Y, Amamoto T, Shindo M, Omiecinski J, Aramaki H (2011). (–)-*Xanthatin* selectively induces GADD45 γ and stimulates caspase-independent cell death in human breast cancer MDA-MB-231 cells. Chem Res Toxicol, 24(6):855-65.

Talhouk C, Karam S, Fostok W, El-Jouni, Barbour K (2007). Anti-Inflammatory Bioactivities in Plant Extracts. J Med Food, 10 (1): 1–10.

Taylor M, Reide P (2001). Farmacología. 1ª edición. Edición Harcourt. España. p 146.

Ting H, Huiliang L, Qiaoyan Z, Hanchen Z, Luping Q (2006). New thiazinediones and other components from *Xanthium strumarium*. Chemistry of Natural Compounds, 42 (5): 567-569.

Torrico G (1994). Leñosas útiles de Potosí. 1ª ed. Bolivia.

- Tayler VE (1999). Phytomedicines: back to the future. *J Nat Prod*, 62: 1589–1592
- Valle C, Hacad E, Sudo L, García L (1985). Endocrine disorders render rats hyporeactive to non-steroidal but not to steroidal anti-inflammatory drugs. *Braz J Med Biol Res*, 18(3): 341-347.
- Vanaclocha B, Cañigüeral S (2003). *Fitoterapia. Vademecum de prescripción*. 4º ed. Editorial Masson. Barcelona, 392-394.
- Vasas A, Hohmann J (2011). *Xanthane* sesquiterpenoids: structure, synthesis and biological activity. *Nat. Prod. Rep*, 28: 824–842.
- Verdi G, Brighente C, Pizzolatti G (2005). Género *Baccharis* (*Asteraceae*): aspectos químicos, económicos e biológicos. *Quím. Nova*, 28 (1):85-94.
- Villa Señor J. (1993). La familia *Asteraceae* en México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, (XLIV): 117–124.
- Villa L, Sanchez A, Perez A, Alabram F (1999). *Uso Clínicos de los AINES*. 1ª ed. España: Rothographiks.
- Wagner H, Willer F, Samtleben R, Boos G (1994). Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine*, 1: 213-224.
- Warner TD, Mitchell JA (2004). Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J*, 18: 790-804.
- Winter C (1962). Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 111: 544-550.
- Yan XG, Jia JM, Tang L, Shi LY, Wang YQ, Feng BM (2008). New chemical constituents of roots of *Urtica triangularis* Hand- Mass. *Chem Pharm Bull*, 56: 1463-1465.
- Yatsuk Ya, Soshkikova O, Chalyi G, Eletskeya O (2005). In: *Collection of Scientific Works of Pyatigorsk GFA “Development, investigation, and marketing of a new pharmaceutical product,”* Pyatigorsk, 60: 75 – 76.
- Yener Z, Celik I, Ilhan F, Bal R (2009). Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food Chem Toxicol*, 47(2):418-24.
- Ying H, Zheng C, Jian L, Dong W (2008). A new thiaziedione from the fruits of *Xanthium sibiricum*. *Journal of Asian Natural Products*, 10(4): 303-305.

Zalles Jaime, De Lucca Manuel (1991). El verde de la salud. 1ª ed. Cochabamba: Los amigos del libro.

Zhang Q, Li L, Liu L, Li Y, Yuan L, Song L, Wu Z (2008). Effects of the polysaccharide fraction of *Urtica fissa* on castrated rat prostate hyperplasia induced by testosterone propionate. *Phytomedicine*, 15(9):722-7.

Zeynep G, Aysen Y, Tugba T, Goksel S, Sule C, Rabia P, Esin C, Ayhan A, Betul D (2011). The Effect of Stinging Nettle (*Urtica dioica*) Seed Oil on Experimental Colitis in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 14 (12): 1554–1561.

Zhou Yuan, Wei Wang, Ling Tang, Xing-guo Yan, Li-ying Shi, Yong-qi Wang, Bao-min Feng (2009). Lignan and flavonoid glycosides from *Urtica laetevirens* Maxim. *J Nat Med*, 63: 100–101.

Zohreh H, Ahmad L (2004). Composition of the Essential Oil of *Xanthium brasiliicum* Vellozo from Iran. *J. Essent. Oil Res*, 16: 31-32.

www.unido.org/foresight/andean-study

http://www.fitoterapia.net/vademecum/laboratorios_letra.php?letra=Y. Fitoterapia, net (2007).

8. ANEXOS

Anexo 1

Tabla 1. Efecto antiinflamatorio de los extractos de *Xanthium spinosum* L. (1,5 g/kg v.o.), indometacina (10 mg/kg v.o.) y dexametasona (4 mg/kg i.p.) según el modelo de edema de pata inducido por carragenina

Tratamiento oral	Variación del espesor de la pata (media±S.E.M.) [porcentaje de inhibición]		
	3h	5h	7h
Control	1,545 ± 0,168	1,620 ± 0,143	1,602 ± 0,153
Indometacina	0,813 ± 0,163* [33,8]	0,708 ± 0,157* [55,8]	0,823 ± 0,238* [60,7]
Dexametasona	0,455 ± 0,093* [71,9]	0,226 ± 0,075* [86,5]	0,081 ± 0,037* [95,2]
Ext. Acuoso	0,905 ± 0,115 [37,0]	0,798 ± 0,124* [47,2]	0,526 ± 0,113* [64,8]
Ext. Etanólico	0,812 ± 0,214* [47,3]	0,708 ± 0,106* [55,7]	0,532 ± 0,104* [66,7]
Ext. Diclorometánico	1,103 ± 0,128 [27,8]	0,825 ± 0,140* [48,8]	0,746 ± 0,108* [53,0]
Ext. Etéreo	1,250 ± 0,143 [8,6]	1,195 ± 0,272 [16,7]	0,716 ± 0,171* [49,5]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

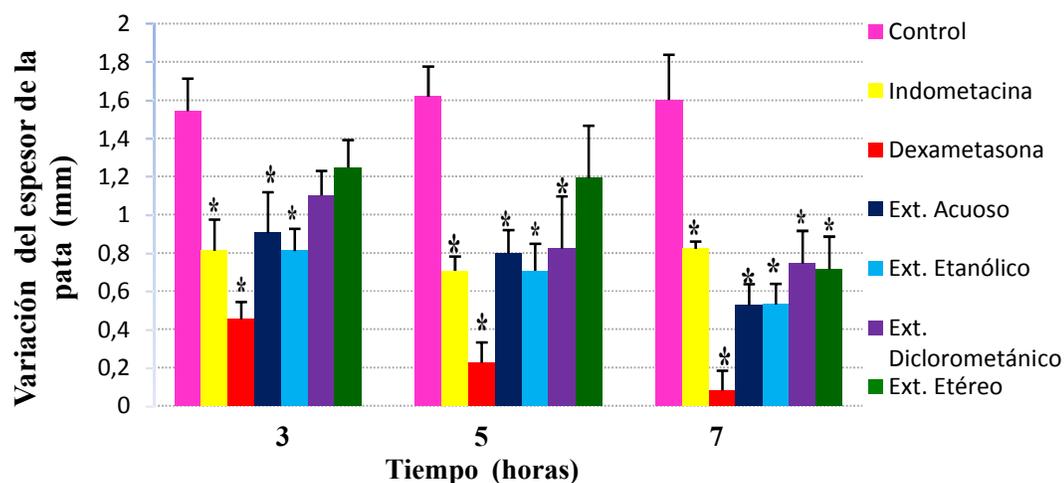


Figura 1. Variación del espesor de la pata de los ratones a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio

Tabla 2. Efecto antiinflamatorio de los extractos de *Urtica urens* L. (1,5 g/kg v. o.), indometacina (10 mg/kg v.o.) y dexametasona (4 mg/kg i.p.) según el modelo de edema de pata inducido por carragenina

Tratamiento oral	Variación del espesor de la pata (media±S.E.M.) [porcentaje de inhibición]		
	3h	5h	7h
Control	1,534 ± 0,167	1,628 ± 0,142	1,692 ± 0,151
Indometacina	0,486 ± 0,092* [70,3]	0,381 ± 0,068* [78,1]	0,496 ± 0,146* [71,2]
Dexametasona	0,612 ± 1,110* [59,3]	0,288 ± 0,430* [81,4]	0,220 ± 0,259* [85,8]
Ext. Acuoso	0,837 ± 0,221* [48,2]	0,935 ± 0,207* [45,1]	0,716 ± 0,214* [57,4]
Ext. Etanólico	1,080 ± 0,098 [33,1]	1,113 ± 0,122 [34,3]	0,818 ± 0,168* [51,1]
Ext. Diclorometánico	1,113 ± 0,126 [29,9]	1,355 ± 0,210 [19,0]	1,410 ± 0,256 [15,0]
Ext. Etéreo	1,592 ± 0,260 [-3,4]	1,742 ± 0,291 [-7,9]	1,578 ± 0,367 [0,9]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

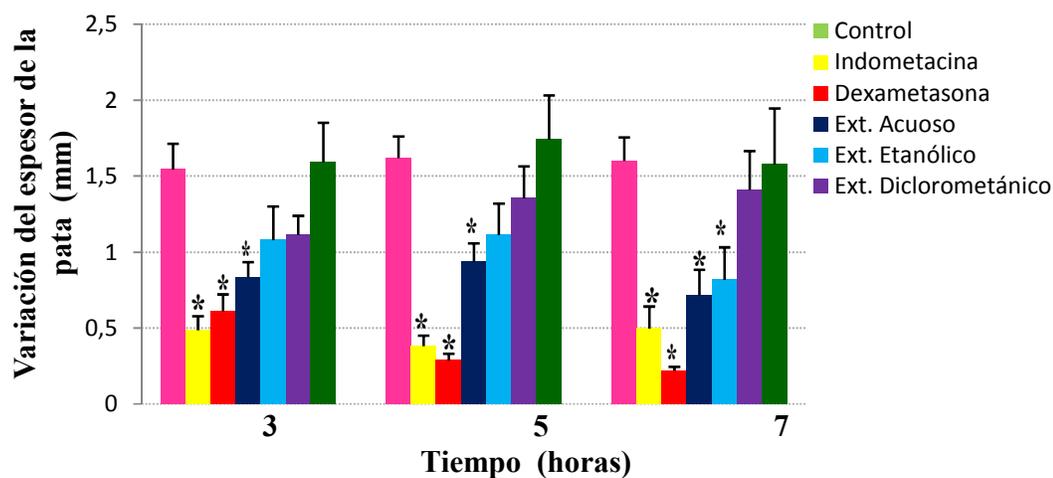


Figura 2. Variación del espesor de la pata de los ratones a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio

Tabla 3. Efecto antiinflamatorio del extracto combinado acuoso de *Urtica urens* L. (0,75 g/kg v.o.) y *Xanthium spinosum* L. (0,75 g/kg v.o.), indometacina (10 mg/kg v.o.) y dexametasona (4 mg/kg i.p.) según el modelo de edema de pata inducido por carragenina

Tratamiento oral	Variación del espesor de la pata (media±S.E.M.) [porcentaje de inhibición]		
	3h	5h	7h
Control	1,499 ± 0,159	1,625 ± 0,144	1,699 ± 0,158
Indometacina	0,752 ± 0,175* [50,0]	0,615 ± 0,068* [61,5]	0,437 ± 0,146* [72,4]
Dexametasona	0,612 ± 1,110* [59,3]	0,288 ± 0,043* [81,4]	0,220 ± 0,259* [85,8]
Ext. Acuoso	1,028 ± 0,126 [29,6]	0,752 ± 0,126* [50,8]	0,467 ± 0,128* [68,9]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

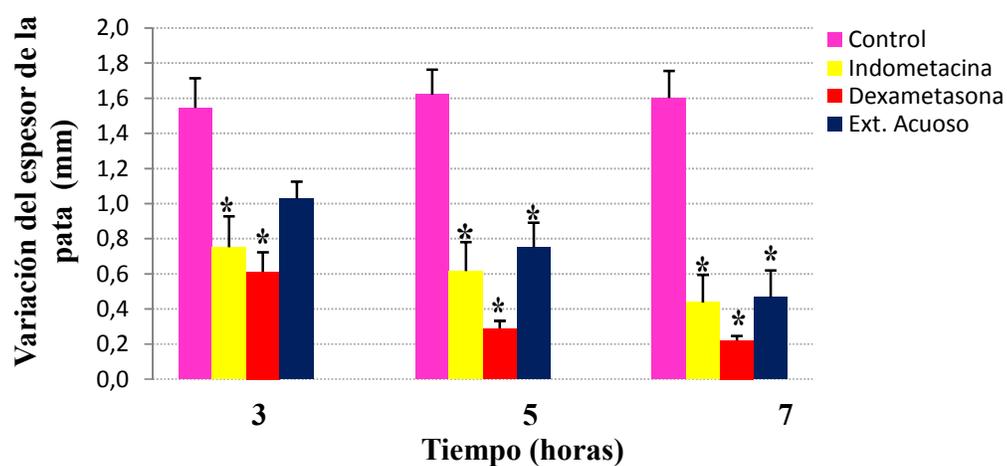


Figura 3. Variación del espesor de la pata de los ratones a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio

Tabla 4. Efecto antiinflamatorio del extracto combinado etanólico de *Urtica urens* L. (0,75 g/kg v.o.) y *Xanthium spinosum* L. (0,75 g/kg v.o.), indometacina (10 mg/kg v.o.) y dexametasona (4 mg/kg i.p.) según el modelo de edema de pata por carragenina

Tratamiento oral	Variación del espesor de la pata (media±S.E.M.) [porcentaje de inhibición]		
	3h	5h	7h
Control	1,499 ± 0,159	1,625 ± 0,144	1,699 ± 0,158
Indometacina	0,487 ± 0,092* [70,3]	0,382 ± 0,069* [78,1]	0,497 ± 0,146* [71,5]
Dexametasona	0,612 ± 1,110* [59,3]	0,288 ± 0,043* [81,4]	0,220 ± 0,026* [85,8]
Ext. Etanólico	0,918 ± 0,052* [41,3]	0,843 ± 0,081* [48,5]	0,673 ± 0,153* [58,6]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

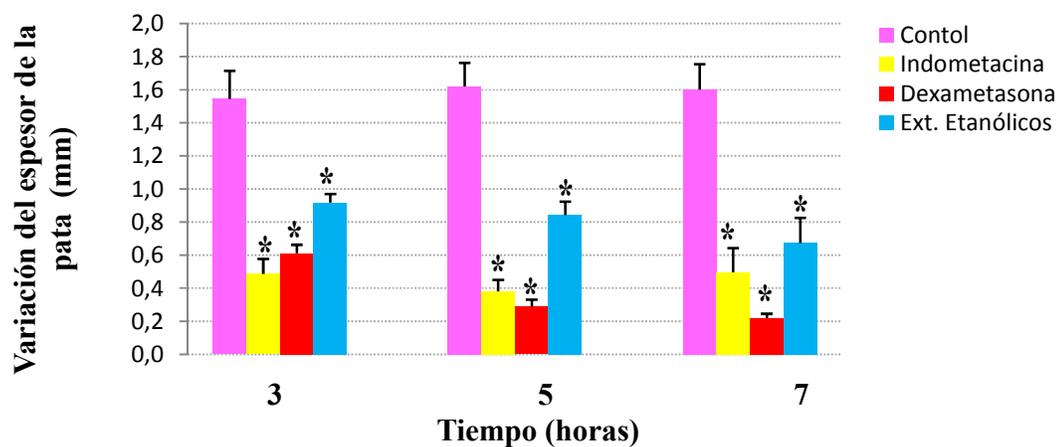


Figura 4. Variación del espesor de la pata de los ratones a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio

Anexo 2

Tabla 1. Actividad analgésica de extractos de *Xanthium spinosum* L. (1,5 g/kg v.o.), indometacina (10mg/kg v.o.) frente al modelo de inducción de contorciones abdominales por la inyección intraperitoneal de ácido acético en ratones

Tratamiento oral	Nº de contorciones (media \pm S.E.M.) [porcentaje de inhibición]
Control	14,4 \pm 1,77
Indometacina	6,3 \pm 0,84* [56,2]
Ext. Acuoso	9,2 \pm 1,48* [36,3]
Ext. Etanólico	6,7 \pm 1,29* [53,5]
Ext. Diclorometánico	5,6 \pm 1,06* [61,0]
Ext. Etéreo	7,5 \pm 0,58* [47,9]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

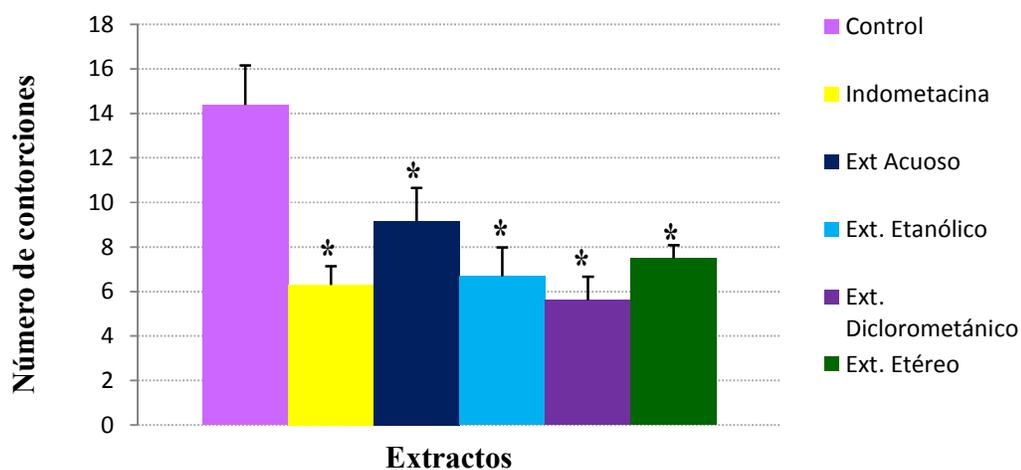


Figura 1. Media del número de contorciones para los extractos de *X. spinosum* L.

Tabla 2. Actividad analgésica de extractos de *Urtica urens* L. (1,5 g/kg v.o.), indometacina (10mg/kg v.o.) frente al modelo de inducción de contorciones abdominales por la inyección intraperitoneal de ácido acético en ratones

Tratamiento oral	Nº de contorciones (media \pm S.E.M.) [porcentaje de inhibición]
Control	14,4 \pm 1,77
Indometacina	6,3 \pm 0,84* [56,2]
Ext. Acuoso	6,7 \pm 1,33* [53,5]
Ext. Etanólico	3,9 \pm 0,64* [72,8]
Ext. Diclorometánico	6,0 \pm 0,88* [58,3]
Ext. Etéreo	8,7 \pm 0,46* [39,8]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

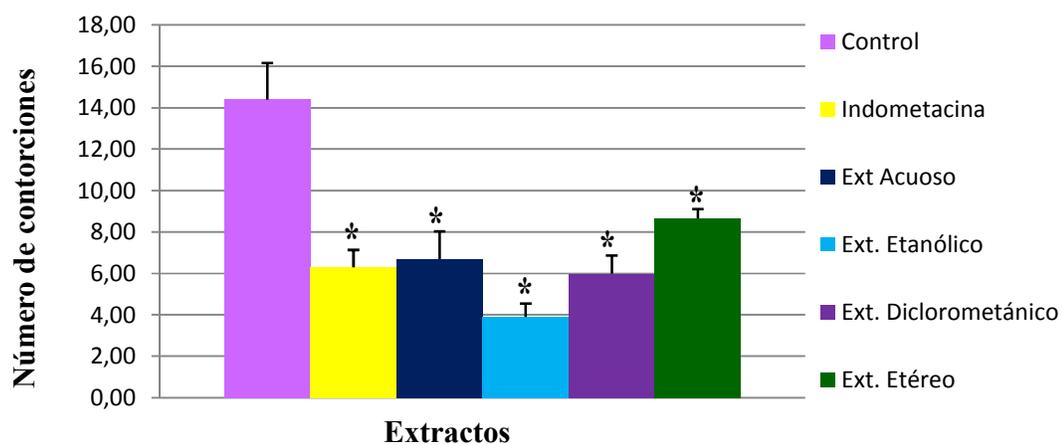


Figura 2. Media del número de contorciones para los extractos de *Urtica urens* L.

Tabla 3. Actividad analgésica del extracto combinado acuoso de *Urtica urens* L. (0,75 g/kg v.o.) y *Xanthium spinosum* L. (0,75 g/kg v.o.), indometacina (10mg/kg v.o.) frente al modelo de inducción de contorciones abdominales por la inyección intraperitoneal de ácido acético en ratones

Tratamiento oral	Nº de contorciones (media \pm S.E.M.) [porcentaje de inhibición]
Control	14,4 \pm 1,77
Indometacina	6,3 \pm 0,84* [56,2]
Ext. Acuoso	6,5 \pm 0,91* [54,8]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

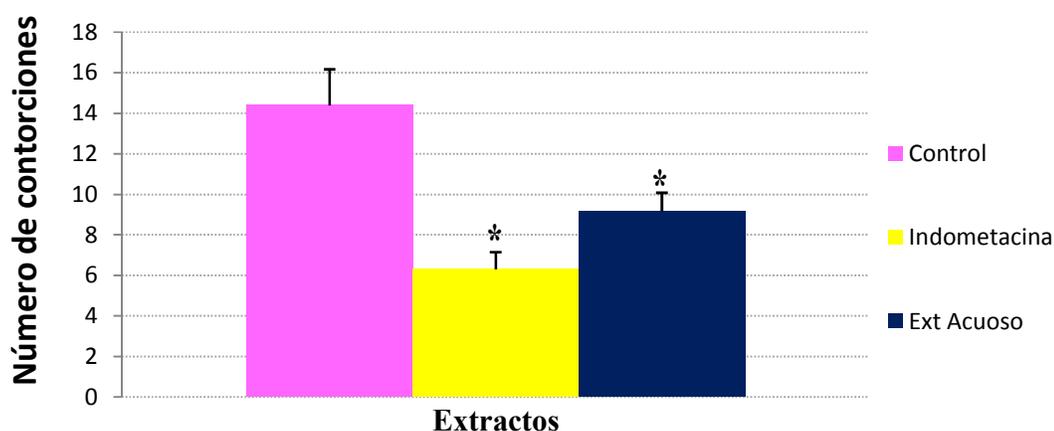


Figura 3. Media del número de contorciones para el extracto combinado acuoso de *Urtica urens* L. y *Xanthium spinosum* L.

Tabla 4. Actividad analgésica del extracto combinado etanólico de *Urtica urens* L. (0,75 g/kg v.o.) y *Xanthium spinosum* L. (0,75 g/kg v.o.), indometacina (10mg/kg v.o.) frente al modelo de inducción de contorciones abdominales por la inyección intraperitoneal de ácido acético en ratones

Tratamiento oral	Nº de contorciones (media \pm S.E.M.) [porcentaje de inhibición]
Control	14,4 \pm 1,77
Indometacina	6,3 \pm 0,84* [56,2]
Ext. Etanólico	11,4 \pm 2,45 [20,8]

Diferencia significativa frente al control: *p < 0,05

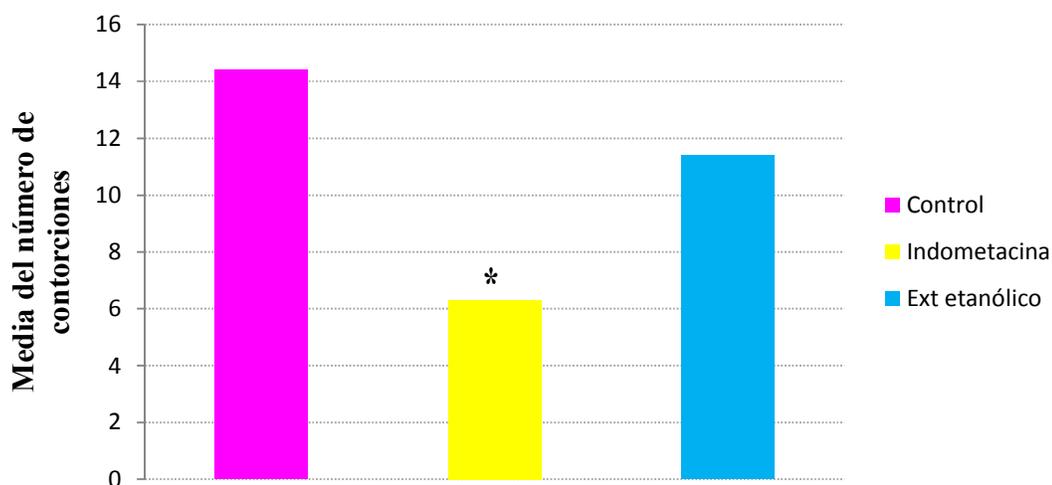
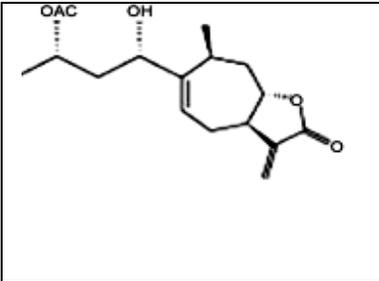
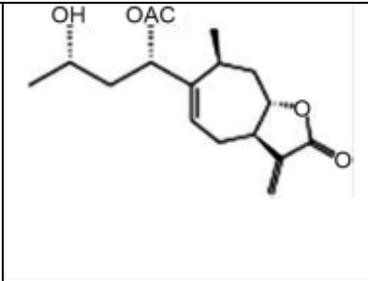
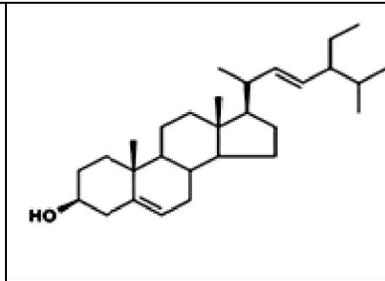
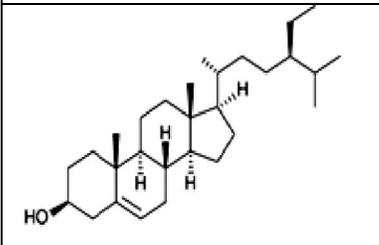
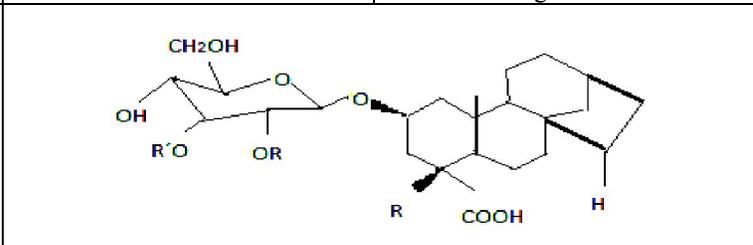


Figura 3. Media del número de contorciones para el extracto combinado etanólico de *Urtica urens* L. y *Xanthium spinosum* L.

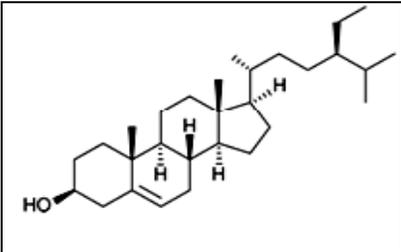
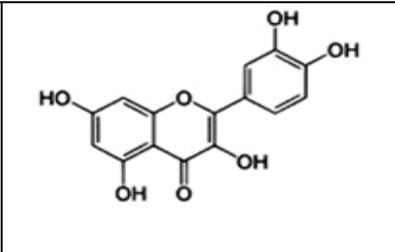
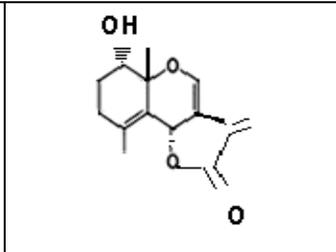
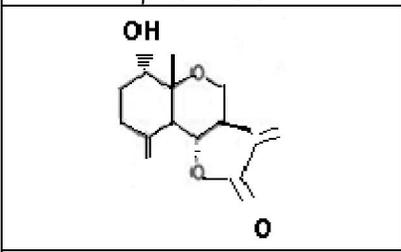
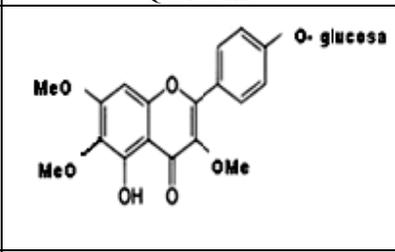
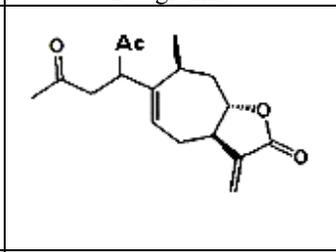
Anexo 3

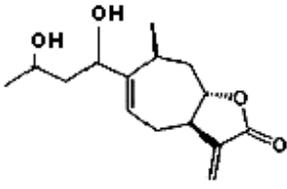
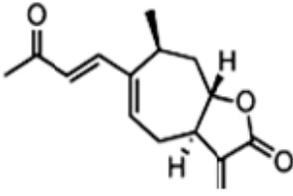
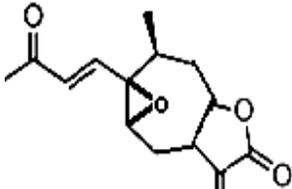
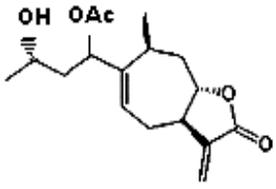
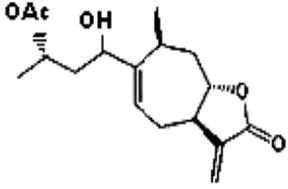
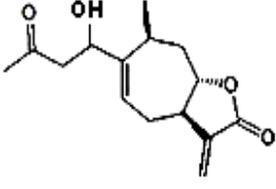
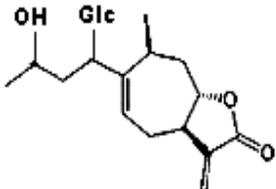
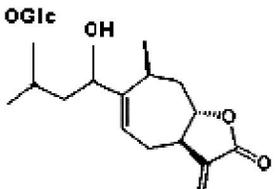
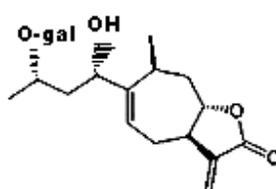
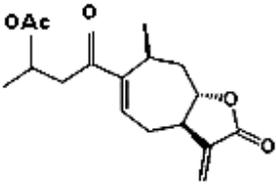
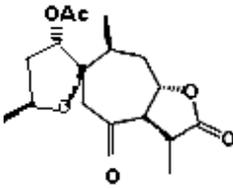
Estructuras químicas que presentan las especies del género *Xanthium*

Ácido caféico	Ácido clorogénico	D-limoneno
Mirceno	Borneol	Fenchona
Acetato de isobornilo	<i>Xanthatin</i>	<i>Xanthinosin</i>

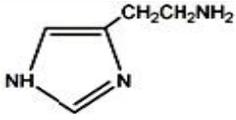
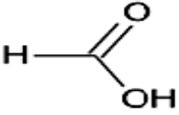
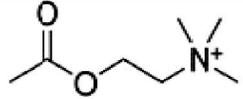
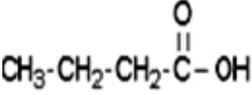
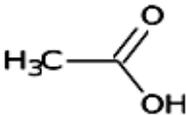
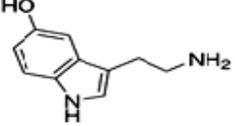
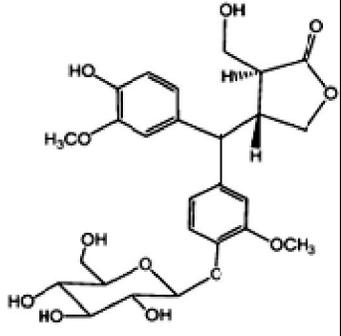
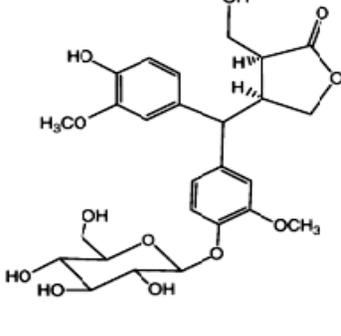
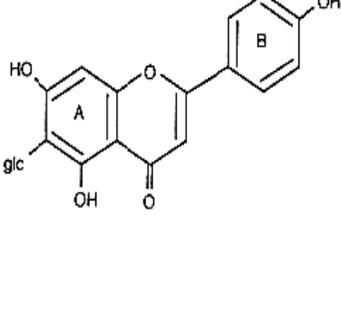
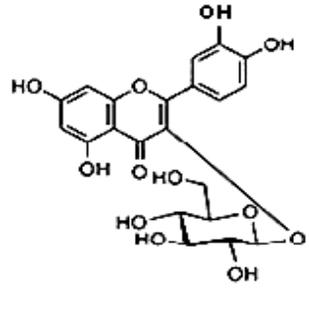
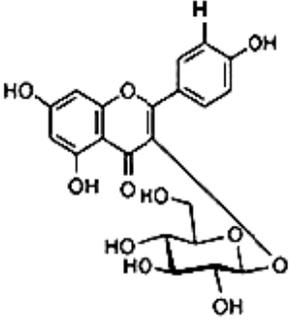
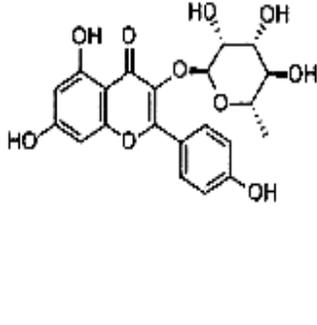
		
Xanthanol	Isoxanthanol	Estigmasterol
		
β -sitosterol	2 β -O- β -D- glucopiranosil-15 α - hidroxi-kaureno-16-en-18,19 ácido dicarboxílico	

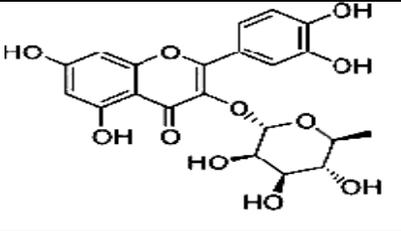
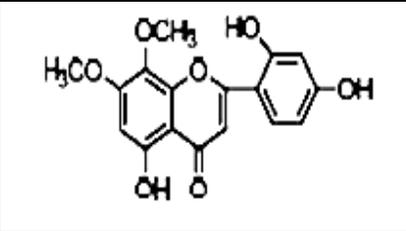
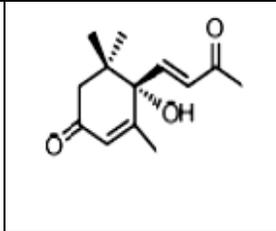
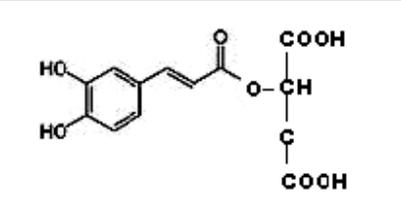
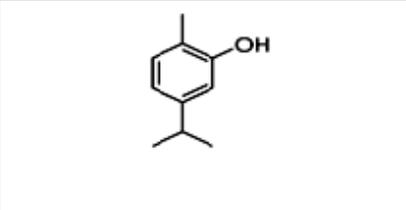
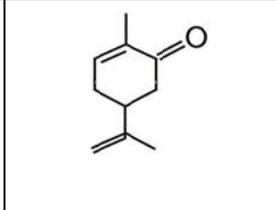
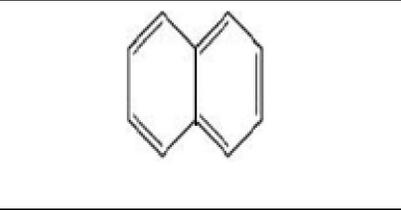
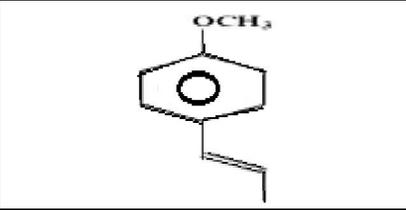
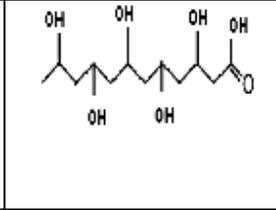
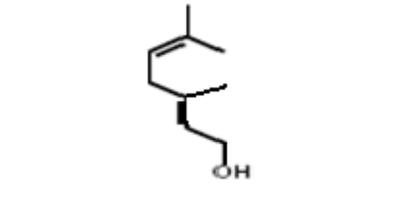
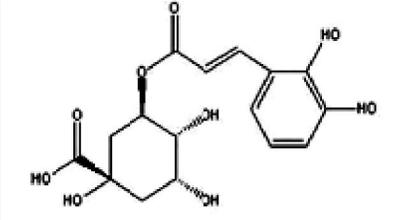
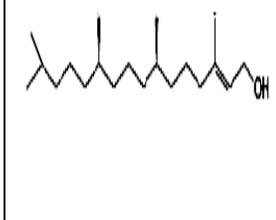
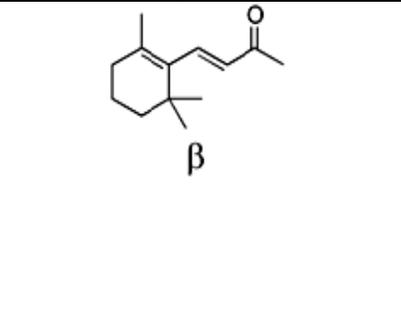
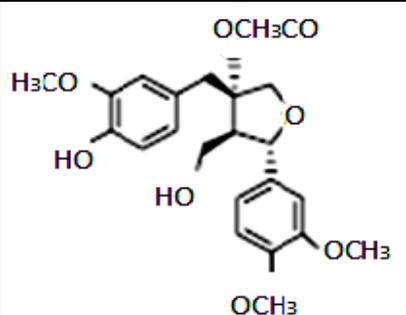
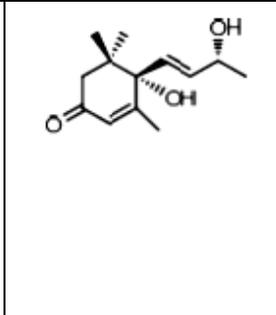
Estructuras químicas que presentan las especies de la especie vegetal *Xanthium spinosum* L.

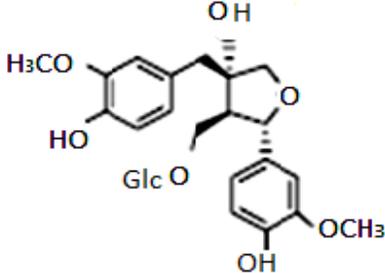
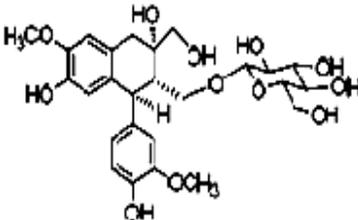
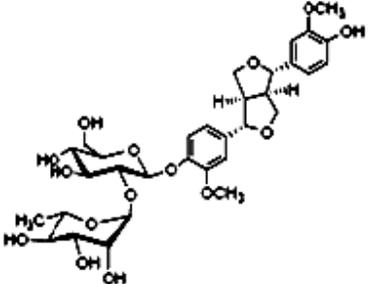
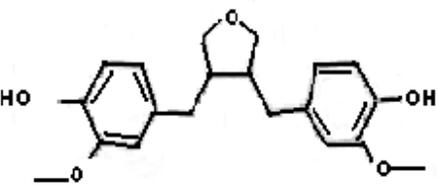
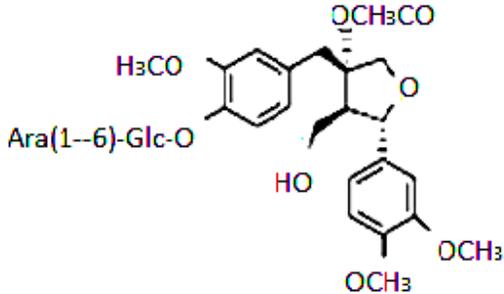
		
β - sitosterol	Quercetina	Douglanina
		
Reynosina	Pendulina	Xanthinin

		
Ivalvin	Xanthatin	Xanthatin-1 α ,5 α -epoxido (1 α ,5 α -epoxyxanthatin)
		
Xanthanol	Isoxanthanol	2-Hydroxyxanthinosin
		
2-O- β -Dglucopiranosil-11 α , 13-dihydro-8-epi-deacetyl-xanthiuminol	4-O- β -Dglucopiranosil-11 α , 13-dihydro-8-epi-deacetyl-xanthiuminol	2-desacetil-8-epixanthumanol-4-O- β -d galactopiranoside
		
2-oxo-4-O-acetil-desacetil-xanthanol	Cyclospinosolide	

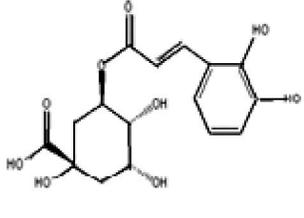
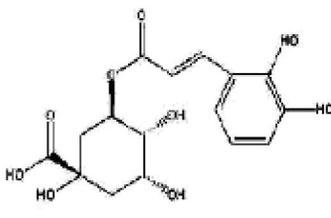
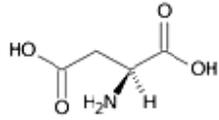
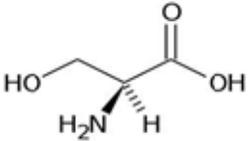
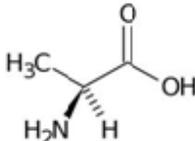
Estructuras químicas que presentan las especies del género *Urtica*

		
Histamina	Ácido fórmico	Acetilcolina
		
Ácido butírico	Ácido Acético	5-hidroxitriptamina
		
Urticaside A	Urticaside B	Isovitexina
		
Isoquercitrina	Astragalina	Afzelin

		
Quercitrina	5, 2', 4' trihidroxi 7, 8 dimetoxi flavona	Dehidrovomifoliol
		
2-O- cafeoilmálico	Carvacrol	Carvona
		
Nafataleno	E-anetol	Hexahidrofarnesil
		
E-geranil	Ácido clorogénico	Fitol
		
E-β-ionona	(-)-4-metoxi-8'-acetil olivil	(+) Blumenol A

	
(-)-olivil-9-O-β-glucopiranoside	Ciclo-olivil-9-O-β-glucopiranoside
	
Pinoresinol 4-O-α-L-ramnopiranosil (1--2)-β-D-glucopiranoside	(-)-3,4-divanillyltetrahydrofuran
	
(-)-4-metoxi-8'-acetilolivil-4-O-α-arabinopiranosil(1-6)-β-glucopiranoside	

Estructuras químicas que presentan las especies de la especie vegetal *Urtica urens* L.

 A complex polyphenolic structure consisting of a quinic acid core esterified with a caffeoyl group. The quinic acid part is a cyclohexane ring with three hydroxyl groups and a carboxylic acid group. The caffeoyl group is a propenoic acid derivative with two hydroxyl groups on the phenyl ring.	 A complex polyphenolic structure consisting of a quinic acid core esterified with a caffeoyl group. The quinic acid part is a cyclohexane ring with three hydroxyl groups and a carboxylic acid group. The caffeoyl group is a propenoic acid derivative with two hydroxyl groups on the phenyl ring.	 A four-carbon dicarboxylic acid with an amino group on the second carbon. The amino group is shown with a wedge bond, and a hydrogen atom is shown with a dashed bond.
Ácido caféico	Ácido clorogénico	Ácido aspártico
 A three-carbon amino acid with a hydroxyl group on the second carbon. The amino group is shown with a wedge bond, and a hydrogen atom is shown with a dashed bond.	 A three-carbon amino acid with a methyl group on the second carbon. The amino group is shown with a wedge bond, and a hydrogen atom is shown with a dashed bond.	
Serina	Alanina	

Anexo 4

Certificación de la autenticación de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. por el Herbario Nacional de Bolivia

PLANTAS COLECTADAS POR: MARIA DEL PILAR GUTIERREZ DURAN

Determinadas por: Maria del Pilar Guttierrez Duran y revisadas por Javier Quisbert

Fecha: junio de 2010

1 Urticaceae *Urtica urens* L.

2 Compositae *Xanthium spinosum* L.

