

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
ESCUELA DE POSTGRADO
SECCION DE POSTGRADO EN FARMACIA Y BIOQUIMICA



EFFECTO DEL GEL DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE
***Piper aduncum* EN LA INFLAMACIÓN INDUCIDA EN**
Rattus rattus var. norvegicus

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CON MENCIÓN EN FARMACIA CLÍNICA

AUTOR:

Br. CÉSAR LUIS AVALOS CAPRISTÁN

ASESOR:

Ms. ROGER RENGIFO PENADILLOS

TRUJILLO – PERÚ

2016

JURADO DICTAMINADOR

**Dr. Roberto Osmundo Ybañez Julca
PRESIDENTE**

**Dr. Iván Miguel Quispe Díaz
SECRETARIO**

**Ms. Roger Rengifo Penadillos
MIEMBRO**

DEDICATORIA

A mis padres César y María, por todo el apoyo brindado para mi desarrollo profesional.

A mis hermanos Carlos y Elena, por ser un ejemplo permanente a seguir.

A Carla, mi eterno amor que me acompaña día a día en cada uno de los proyectos que me propongo.

AGRADECIMIENTO

- Al Mg. Roger Rengifo Penadillos, quien me enseñó el interés por la investigación y experimentación, lo cual me ha servido mucho en mi desarrollo profesional. Gracias por su confianza y amistad durante estos años.

INDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
2.1. MATERIALES.....	8
2.2. MÉTODO.....	9
III. RESULTADOS.....	15
IV. DISCUSIÓN	20
V. CONCLUSIONES	24
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS	32

RESUMEN

La inflamación es un proceso tisular que se produce ante una lesión, ya sea debido a bacterias, traumatismos, sustancias químicas, calor o cualquier otro fenómeno. Existen medicamentos que se emplean para aliviar los procesos inflamatorios, los cuales deben ser cuidadosamente valorados, ya que producen una gran variedad de efectos secundarios. Entre los efectos secundarios producidos destacan la patología digestiva, y de forma más reciente se determinó un aumento en la probabilidad de ataque cardíaco o derrame cerebral. Debido a que los efectos secundarios de los medicamentos son difíciles de dilucidar, la medicina tradicional continúa siendo una opción importante. *Piper aduncum* es una planta a la que se le atribuyen propiedades medicinales, tales como antiséptica y cicatrizante de heridas. Es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum*, en la inflamación inducida en *Rattus rattus* var. *norvegicus*. Se formaron 5 grupos (Grupo control, grupo patrón y 3 grupos expuestos al gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* al 1%, 2% y 4%) de 12 especímenes y se indujo inflamación inyectando 1 mL de solución de carragenina al 1% en la zona subplantar de la pata posterior derecha, aplicando posteriormente vía tópica los geles preparados con el extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* a los grupos problema, empleándose un fármaco (diclofenaco gel) de comparación en el grupo patrón. El gel del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* presentó efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1%, 2% y 4%, en la inflamación inducida en *Rattus rattus* var. *norvegicus*. Asimismo, se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antiinflamatorio de los grupos y del grupo patrón. El efecto antiinflamatorio podría explicarse debido a la concentración de flavonoides presentes en las hojas de *Piper aduncum*.

Palabras clave: *Piper aduncum*, inflamación

ABSTRACT

Inflammation is a process that occurs tissue with injury, either due to bacteria, trauma, chemicals, heat or any other phenomenon. There are medications used to alleviate inflammatory processes, which must be carefully evaluated, because they produce a variety of side effects. Among the produced side effects include gastrointestinal pathology, and more recently determined an increase in the likelihood of heart attack or stroke. Because the side effects of drugs are difficult to ascertain, traditional medicine continues to be an important option. *Piper aduncum* is a plant that is attributed medicinal properties, such as wound healing and other antiseptic properties. That is why this work was to determine the effect of gel ethanolic leaf extract *Piper aduncum*, in inflammation induced in *Rattus rattus* var. *norvegicus*. 5 groups (control group, group pattern and 3 groups exposed to gel ethanol extract of leaves of *Piper aduncum* 1%, 2% and 4%) of 12 specimens and inflammation was induced by injecting 1 mL of carrageenan solution 1 was formed % in the subplantar area of the right hind paw, then applying topical gels prepared with the ethanol extract of leaves of *Piper aduncum* the problem groups, using a drug (diclofenac gel) in the pattern comparison group. The gel ethanolic extract of *Piper aduncum* leaves presented antiinflammatory effect, at concentrations of 1%, 2% and 4%, in inflammation induced *Rattus rattus* var. *norvegicus*. It was also determined that there is no statistically significant difference between the anti-inflammatory effect of groups and group difference pattern. The antiinflammatory effect could be explained due to the concentration of flavonoids in *Piper aduncum* leaves.

Keywords: *Piper aduncum*, inflammation

I. INTRODUCCION

La inflamación es un proceso tisular que se produce ante una lesión, ya sea debido a bacterias, traumatismos, sustancias químicas, calor o cualquier otro fenómeno; ante los cuales los tejidos lesionados liberan múltiples sustancias que dan lugar a cambios secundarios en los tejidos vecinos no lesionados. (González, 2003)

La inflamación se caracteriza por: 1) la vasodilatación de los vasos sanguíneos locales, con el consiguiente exceso de flujo sanguíneo local; 2) el aumento de la permeabilidad de los capilares, lo que permite la fuga de grandes cantidades de líquido hacia los espacios intersticiales; 3) a menudo la coagulación del líquido en los espacios intersticiales por un aumento en las cantidades de fibrinógeno y otras proteínas que salen de los capilares; 4) la migración de un gran número de granulocitos y monocitos al tejido, y 5) la tumefacción de las células tisulares. Algunos de los muchos productos tisulares que provocan esta reacción son la histamina, bradisinina, serotonina, prostaglandinas, varios productos de reacción diferentes del sistema del complemento, productos de reacción del sistema de coagulación de la sangre y múltiples sustancias llamadas linfocinas, que liberan los linfocitos T sensibilizados. (González, 2003) (Farreras, 2006)

El edema inducido por carragenina ha sido usado comúnmente como un modelo experimental animal para la inflamación aguda y se cree que es bifásico. La fase temprana del modelo de carragenina es mediada

principalmente por histamina, serotonina, así como un incremento de la síntesis de prostaglandinas en los alrededores de los tejidos dañados. La fase tardía es sostenida por la liberación de prostaglandinas y mediado por la bradicinina, leucotrienos, células polimorfonucleares, y prostaglandinas producida por los macrófagos del tejido. (Alam, 2013)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son una clase de medicamentos disponibles en forma de venta libre y mediante receta. Son utilizadas comúnmente para tratar el dolor y la fiebre en condiciones médicas como la artritis, dolores menstruales, dolores de cabeza, gripe y la influenza. (FDA, 2015)

Casi todos los AINEs utilizables hoy en día inhiben las actividades de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2): y con ello la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. (Insel, 2001)

La administración de los AINES debe ser cuidadosamente valorada, ya que producen una gran variedad de efectos secundarios. Asimismo, cabe destacar, la patología digestiva y más concretamente la que incide sobre la mucosa gastroduodenal; debido a su frecuencia y transcendencia clínica. Al respecto la agencia reguladora de medicamentos de los EE.UU. (Food and Drug Administration - FDA) revisó los eventos gastrointestinales superiores registrados en los metaanálisis de ensayos clínicos aleatorizados realizados para con los AINE tradicionales (AINEt) e inhibidores selectivos de la COX-2 (COXib). En base a la revisión realizada, la FDA decidió reforzar las

advertencias para los AINEt y COXib, indicando que aumenta la probabilidad de ataque cardiaco o derrame cerebral. (FDA, 2015)

La agencia de reguladora de Canadá (Health Canada), indicó que aproximadamente el 50% de los casos de insuficiencia hepática subfulminante es causada por una sobredosis de paracetamol.(Health Canada, 2012) Sin embargo, la toxicidad hepática producida por paracetamol también puede ocurrir en otras situaciones, incluyendo sobredosis accidental (automedicación) y con el uso en dosis normales. (TGA, 2012)

La automedicación es el tratamiento de una condición patológica verdadera o imaginaria con medicamentos, seleccionados sin supervisión médica o de un agente calificado que incluye la adquisición de medicamentos a través de una fuente formal (farmacias /boticas), recepción de medicamentos por otras fuentes como familiares y amigos, y la utilización de sobrantes de prescripciones previas. Esta es una actividad frecuente de las personas, que constituye una problemática de carácter tanto nacional como mundial y que puede ocasionar riesgos no solo en su salud, sino también en sus vidas. Estudios realizados en nuestro país, evidencian que entre el 40 y 60% de nuestra población se automedica. (Vásquez, 2008)

Un estudio realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, del tipo descriptivo-correlacional, transversal y retrospectivo, tenía el objetivo de determinar la relación entre el nivel socioeconómico-cultural y la automedicación para el manejo del dolor dentario en una población de 400

pacientes en la ciudad de Huaraz, determinó que la actitud más prevalente frente al dolor dentario es la automedicación (64.61%). La investigación concluyó que existe una relación inversamente proporcional entre el nivel socioeconómico-cultural y la automedicación en el manejo del dolor dentario. (Aguedo y Chein, 2008) Se realizaron investigaciones similares en las ciudades de Juliaca – Puno (n=383) y Huamanga – Ayacucho (n=383), determinándose una conducta de automedicación frente al dolor dentario, asimismo se determinó que el medicamento más utilizado en la automedicación farmacológica fue la asociación de Paracetamol + Diclofenaco (Dolocordralan), con un porcentaje de 20.1% y 10.7%. (Pari, 2010), (Luza, 2012) Otro estudio realizado en el Instituto Nacional Materno Perinatal entre marzo y mayo del 2011 (n=400 gestantes), reportó que el 10,5% (42 pacientes) se automedicó durante la gestación, asimismo el 26.3% refirieron no conocer los riesgos que pueden existir para su persona y 36.5% no conocían que riesgos podrían existir para él bebe. (Miní y cols, 2011)

Actualmente, la medicina tradicional representa una opción importante de repuesta ante las necesidades de atención a la salud en diferentes países de América Latina y el Caribe. (Nigenda y cols, 2001) La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la Medicina Tradicional como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades (INS, 2014). En nuestro país, la medicina tradicional es utilizada

ampliamente y desde tiempos ancestrales. El conocimiento sobre salud, enfermedad, prevención y tratamiento; ha sido transmitido de una generación a otra; a través del tiempo. (Guillermo, 2002) La ciencia moderna analiza y estudia los efectos terapéuticos de las plantas, buscando conocer los principios activos responsables de sanar las enfermedades, determinar su estructura química, procurar su síntesis y proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad. Es entonces de gran importancia localizar los principios activos en las diferentes partes de las plantas, para luego aislarlos. (Lock, 1994)

Piper aduncum (conocido popularmente como "matico") es una planta dicotiledónea, arbustiva, perenne de 1,80 a 5 m de altura, raíz pivotante, tallo erguido, leñoso, ramificado, con ramas ascendentes, popularmente conocido como matico, se le atribuyen propiedades medicinales, tales como antiséptica y cicatrizante de heridas. Usado también en problemas intestinales, erisipelas, desórdenes hepáticos, propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular; debido a la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. (Arroyo, 2012) Núñez en su trabajo de investigación intitulado "Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Piper elongatum* administrado por vía oral, comparado con indometacina en Cobayos", demostró una moderada actividad antiinflamatoria frente al de indometacina.

El género *Piper* incluye alrededor de 700 especies, que están ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales. Se han estudiado varias especies de *Piper*, debido a que contienen algunas sustancias con actividad

biológica, y se ha reportado la presencia de amidas, lignanos, neolignanos, flavonoides, fenoles, terpenos y compuestos esteroides. (Rodríguez, 2009)

Diversas formas farmacéuticas son empleadas para la administración de los fármacos antiinflamatorios, la vía oral, la intramuscular y la endovenosa son las más comunes. Pero como ya se ha mencionado, las reacciones adversas producidas por este grupo de fármacos pueden generar complicaciones principalmente gastrointestinales. Las formas farmacéuticas destinadas a la vía percutánea se formulan para conseguir una liberación local o transdérmica de los principios activos, o para su acción protectora. Tienen aspecto homogéneo. Las preparaciones semisólidas para aplicación cutánea están constituidas por una base, simple o compuesta, en la cual habitualmente están disueltos o dispersos uno o más principios activos. (Iracech, 2005)

Es por ello que se pretende demostrar el efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida. A fin de aportar conocimientos científicos sobre la actividad terapéutica de esta planta y con el propósito de buscar una posible presentación y forma farmacéutica adecuada. Para que con posteriores estudios clínicos y tóxicológicos la población podría disponer de un tratamiento natural, eficaz, seguro, al alcance económico, mejorando su calidad de vida.

En el presente trabajo se plantea el siguiente problema:

¿Cuál es el efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida en *Rattus rattus* var. *norvegicus*?

Constituyen los objetivos del presente trabajo:

- Determinar el efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum*, en la inflamación inducida en *Rattus rattus var. norvegicus*.
- Determinar las diferencias del efecto entre los tratamientos aplicados a los grupos problema en comparación con el grupo patrón.

II. MATERIAL Y METODO

2.1 Materiales:

2.1.1 Material biológico:

- **Material botánico**

Se recolectaron 2 Kg. de hojas de *Piper aduncum*, en la provincia de Otuzco departamento de La Libertad. La recolección fue realizada por Salazar Álvarez Lorenzo Daniel el año 2014. La identificación de la especie se realizó en el Herbario Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo. Almacenándose el ejemplar de la especie con el código 57600 (Ver Anexo 1).

- **Animales de experimentación**

Se emplearon 60 especímenes de *Rattus rattus* var. *norvegicus* cepa Holtzman (30 machos y 30 hembras) de 2 meses de edad con un peso comprendido entre 140g a 190g, obtenidos del bioterio del Instituto Nacional de Salud - INS (Ver Anexo 2).

2.1.2 Material farmacológico: El material farmacológico empleado para el grupo patrón en el tratamiento de la inflamación inducida por carragenina fue Voltaren Emulgel 1% Gel con N° de lote W0088 con fecha de vencimiento junio/2016. La información contenida en el inserto indica que 100g de Voltaren Emulgel 1% Gel contienen 1.16g de la sustancia activa diclofenaco dietilamina, que es equivalente a 1g de diclofenaco sódico.

El titular de registro sanitario de Voltaren Emulgel 1% Gel es Novartis Biosciences Perú S.A.

2.1.3 Reactivos:

- Agua destilada
- Etanol 96° G.L.
- Carbopol Spectrum Chemical Lote: 80755
- Hidróxido de sodio Scharlab S.A. Lote: 13172302
- Carragenina Dropaksa Lote: 116064

2.1.4 Material de vidrio:

- El de uso común en laboratorio.
- Extractor Soxhlet

2.1.5 Equipos:

- Balanza Analítica Sartorius modelo BP 301S Serie 13005198
- Estufa Nemmert modelo U40 Serie: 940197
- Tamiz Tyler N° 1.2
- Pletismografo Ugo Basile

2.2 Método:

2.2.1 Recolección de la materia prima

Las hojas de la especie *Piper aduncum* se recolectaron por el método de herborización en la provincia de Otuzco, Departamento de La Libertad (Sánchez, 2007).

2.2.2 Preparación de la muestra

Se seleccionaron las hojas que presentaron características organolépticas adecuadas, colocándose bajo sombra por el espacio de 2 días. Previa limpieza, las hojas fueron estabilizadas, siendo

colocadas en sobres de papel kraft para continuar el secado en una estufa a 40°C durante 24 horas.

Posteriormente, empleando un mortero, se realizó la molienda de las hojas secas.

El polvo obtenido se tamizó con un tamiz nº 1.2 para clasificar el tamaño de partícula.

El producto obtenido se guardó herméticamente en frascos de vidrio, protegido de la luz hasta el momento de la extracción (Muñoz, 2014)

2.2.3 Obtención del extracto etanólico

Se pesó 10 g del polvo de hojas de *Piper aduncum*; procediéndose a extraer los principios activos con 250mL alcohol de 96° GL mediante el método soxhlet. El extracto etanólico obtenido, se llevó a evaporación en baño maría; hasta la obtención de un extracto blando (Mc Cabe, 2002) (Cook, 1953).

2.2.4 Preparación de geles

En cuatro vasos de precipitación se colocó 1g de Carbopol 940 y 60mL de agua destilada, mezclándose y dejándolos reposar en el recipiente durante 24 horas, tapados con papel de aluminio.

Luego de este tiempo, se destaparon los vasos de precipitación y, se añadió, 1 mL de hidróxido de sodio 5% (NaOH) y 20 mL de agua destilada, mezclando suavemente después de la adición de cada componente, procediéndose a medir el pH de las soluciones, controlando un pH = 7 con cintas de papel tornasol.

En tres de los vasos de precipitación se disolvieron 1g, 2g y 4g del extracto etanólico blando de *Piper aduncum* con 20mL de alcohol de

96° GL, y se homogeneizó hasta obtener pH = 7; obteniéndose concentraciones 1%, 2% y 4%, las que constituyen las muestras problemas 1, 2 y 3 respectivamente. Al cuarto vaso no se le añadió el extracto etanólico blando de *Piper aduncum* (gel placebo), por ser el control (Guillermo, 2002).

2.2.5 Solución de carragenina

Se disolvió 1g de carragenina en solución salina 0,9% en cantidad suficiente para 100mL, la dilución se llevó a cabo a una temperatura comprendida entre 40 - 50 °C.

2.2.6 Determinación del efecto sobre la inflamación inducida en *Rattus rattus var. norvegicus*

Para el efecto antiinflamatorio se utilizó el Método del Edema subplantar, haciendo uso de un pletismógrafo (Villena y Arroyo, 2012).

Los especímenes fueron divididos de forma aleatoria en 5 grupos de 12 individuos cada uno. Se midió el volumen de la pata posterior derecha de cada espécimen sano; para luego inducir la inflamación mediante la inyección subplantar de una solución de carragenina 1% (0,1ml), en la pata posterior derecha de cada espécimen.

Posteriormente, se administraron los tratamientos de la siguiente manera:

- **Grupo Control:** Media hora después de inyectada la solución de carragenina se aplicó vía tópica 0,1mL de gel placebo (0,1 mL del gel pesó aproximadamente 0,1023g), posteriormente el gel se aplicó cada 12h durante 3 días.

- **Grupo Problema 1:** Media hora después de inyectada la solución de carragenina se aplicó vía tópica 0,1mL del gel de extracto etanólico de *Piper aduncum* al 1% v/v (0,1 mL del gel pesó aproximadamente 0,1045g) posteriormente el gel se aplicó cada 12h durante 3 días.
- **Grupo Problema 2:** Media hora después de inyectada la solución de carragenina se aplicó vía tópica 0,1mL de gel de extracto etanólico de *Piper aduncum* al 2% v/v (0,1 mL del gel pesó aproximadamente 0,0986g) posteriormente el gel se aplicó cada 12h durante 3 días.
- **Grupo Problema 3:** Media hora después de inyectada la solución de carragenina se aplicó vía tópica 0,1mL de gel de extracto etanólico de *Piper aduncum* al 4% v/v (0,1 mL del gel pesó aproximadamente 0,1038g) posteriormente el gel se aplicó cada 12h durante 3 días.
- **Grupo Patrón:** Media hora después de inyectada la solución de carragenina se aplicó vía tópica 0,1mL de del fármaco de referencia Voltaren® Emulgel, equivalente a 1,185mg de diclofenaco sódico, posteriormente el fármaco se aplicó cada 12h durante 3 días.

Las variaciones del edema se cuantificaron midiendo el volumen de la pata posterior derecha de los animales de los grupos, cada 6 horas por 3 días; mediante el empleo de un pletismógrafo Ugo Basile. El porcentaje de inflamación para cada tratamiento a distintos tiempos, se calculó según la fórmula:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{V_{fx} - V_o}{V_o} \times 100$$

V_{fx} = Volumen después de 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66 y 72 horas de la inyección.

V_o = Volumen normal de la pata del espécimen (inicial).

El método del pletismógrafo se fundamenta en el principio de Arquímedes, el cual establece que todo cuerpo total o parcialmente sumergido en un fluido en reposo experimenta una fuerza ascendente o empuje igual al peso de fluido desplazado. El principio de Arquímedes se expresa con la siguiente fórmula:

$$E = mg = \rho_f Vg$$

E = Empuje hidrostático

m = Masa

g = Aceleración de la gravedad

ρ_f = Densidad del fluido desplazado

V = Volumen del fluido desplazado por el cuerpo

Cuando el porcentaje de inflamación de los grupos problema es significativamente menor que el control, se puede decir que los extractos tienen propiedad antiinflamatoria. El porcentaje de inflamación del grupo que fue tratado con diclofenaco en gel,

permitió estimar la efectividad antiinflamatoria del recurso fitoterapéutico en investigación.

La presente investigación se realizó de acuerdo a lo establecido al principio de las tres R de la experimentación humanizada para con los animales, el cual establece que se debe:

- **Reducir**, al máximo el número de animales y, por ende, el total de animales utilizados en investigación.
- **Reemplazar**, siempre que sea posible el animal de experimentación por otro modelo experimental, cuando no resulte imprescindible el uso de animales.
- **Refinar**, los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible.

2.2.7 Evaluación estadística:

Los resultados obtenidos del ensayo farmacológico realizado para evaluar el porcentaje de inflamación, se analizaron mediante la prueba de Anova, para comprobar la diferencia entre dosis.

III.RESULTADOS

Tabla N° 1: Influencia de la concentración del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida.

Tiempo (h)	Porcentajes de Inflamación				
	Grupo Control	Grupo Problema 1%	Grupo Problema 2%	Grupo Problema 4%	Grupo Patrón
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,42	0,50	0,50	0,48	0,51
12	0,67	0,67	0,61	0,55	0,56
18	0,78	0,65	0,55	0,54	0,47
24	1,06	0,46	0,48	0,46	0,37
30	1,47	0,43	0,43	0,37	0,29
36	1,52	0,29	0,32	0,34	0,18
42	1,39	0,23	0,22	0,23	0,03
48	1,33	0,19	0,20	0,19	0,00
54	1,26	0,05	0,03	0,04	0,00
60	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00
66	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00
72	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00

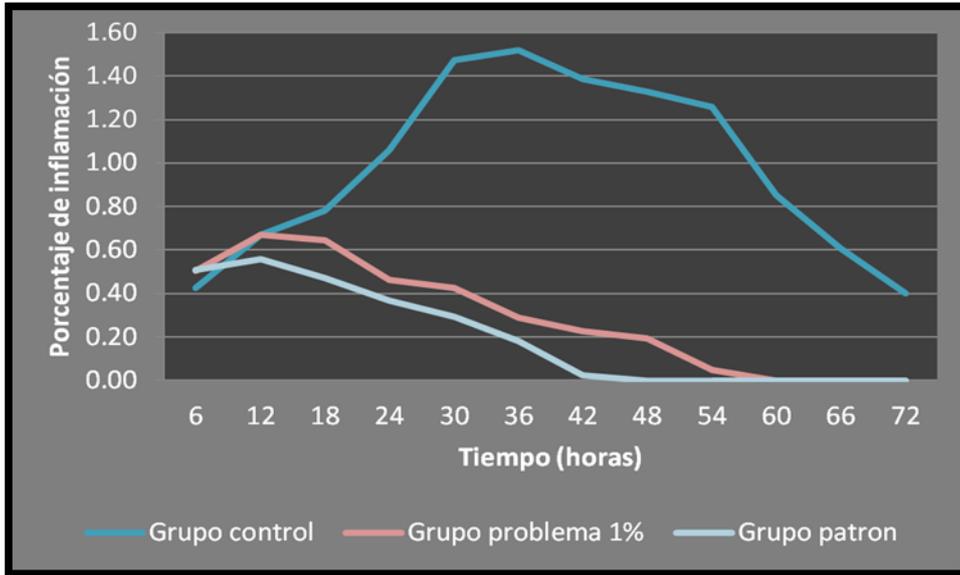


Figura1: Variación del porcentaje de inflamación entre los grupos control, grupo problema1% y grupo patrón.

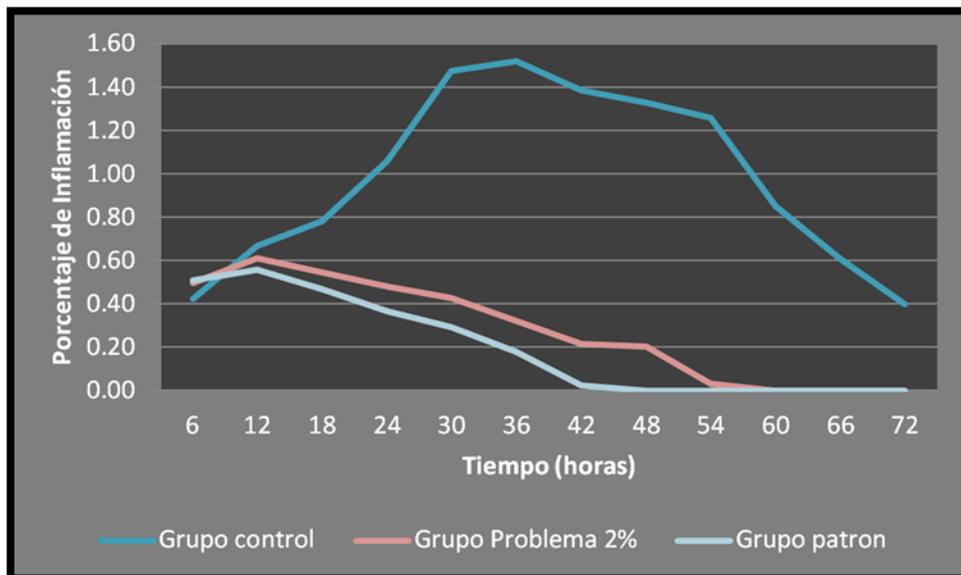


Figura 2: Variación del porcentaje de inflamación entre los grupos control, grupo problema 2% y grupo patrón.

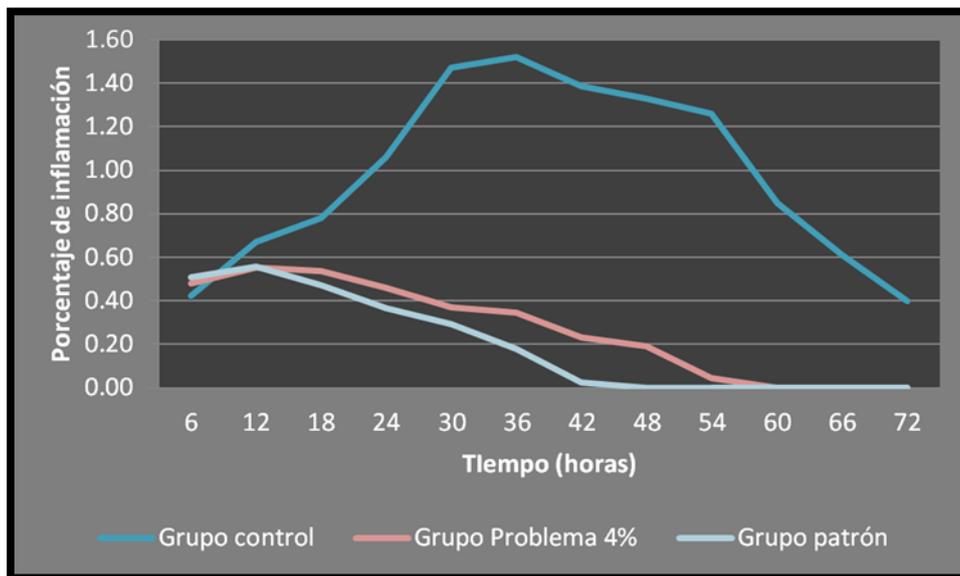


Figura 3: Variación del porcentaje de inflamación entre los grupos control, grupo problema 4% y grupo patrón.

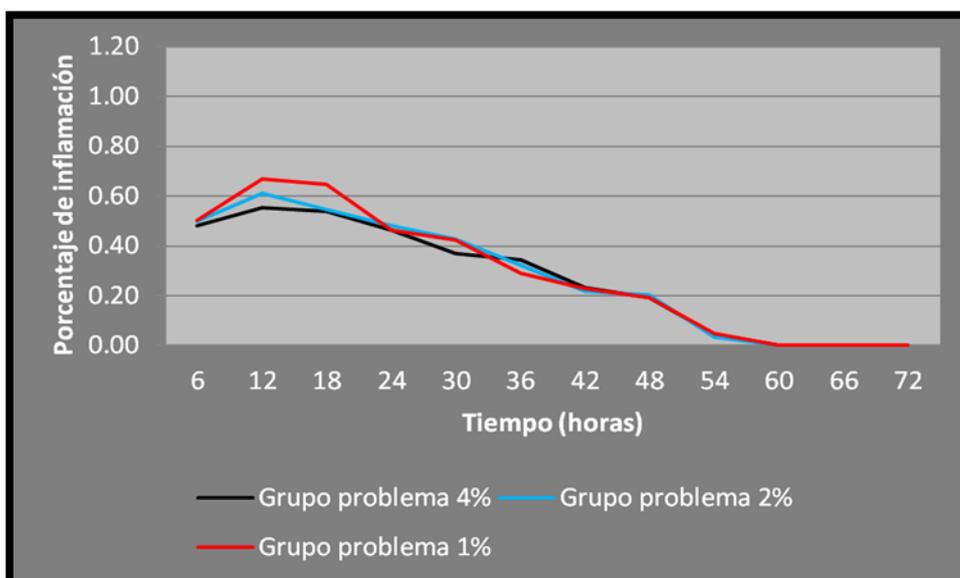


Figura 4: Variación del porcentaje de inflamación entre los grupos problema al 1%, 2% y 4%.

Tabla Nº 2: Prueba de Anova para determinar las diferencias entre los tratamientos aplicados.

GRUPO (I)	GRUPO (J)	Diferencia de medias (I – J)	Error típico	Sig.
Control	Problema 1	0.69083 [*]	0.11321	0,000
	Problema 2	0.70167 [*]	0.11321	0,000
	Problema 3	0.71333 [*]	0.11321	0,000
	Voltaren	0.77917 [*]	0.11321	0,000
Problema 1 (1%)	Control	-0.69083 [*]	0.11321	0,000
	Problema 2	0.01083	0.11321	1,000
	Problema 3	0.02250	0.11321	1,000
	Voltaren	0.08833	0.11321	0,961
Problema 2 (2%)	Control	-0.70167 [*]	0.11321	0,000
	Problema 1	-0.01083	0.11321	1,000
	Problema 3	0.01167	0.11321	1,000
	Voltaren	0.07750	0.11321	0,976
Problema 3 (4%)	Control	-0.71333 [*]	0.11321	0,000
	Problema 1	-0.02250	0.11321	1,000
	Problema 2	-0.01167	0.11321	1,000
	Voltaren	0.06583	0.11321	0,987
Voltaren	Control	-0.77917 [*]	0.11321	0,000
	Problema 1	-0.08833	0.11321	0,961
	Problema 2	-0.07750	0.11321	0,976
	Problema 3	-0.06583	0.11321	0,987

Nota: (*) Existe diferencia estadísticamente significativa

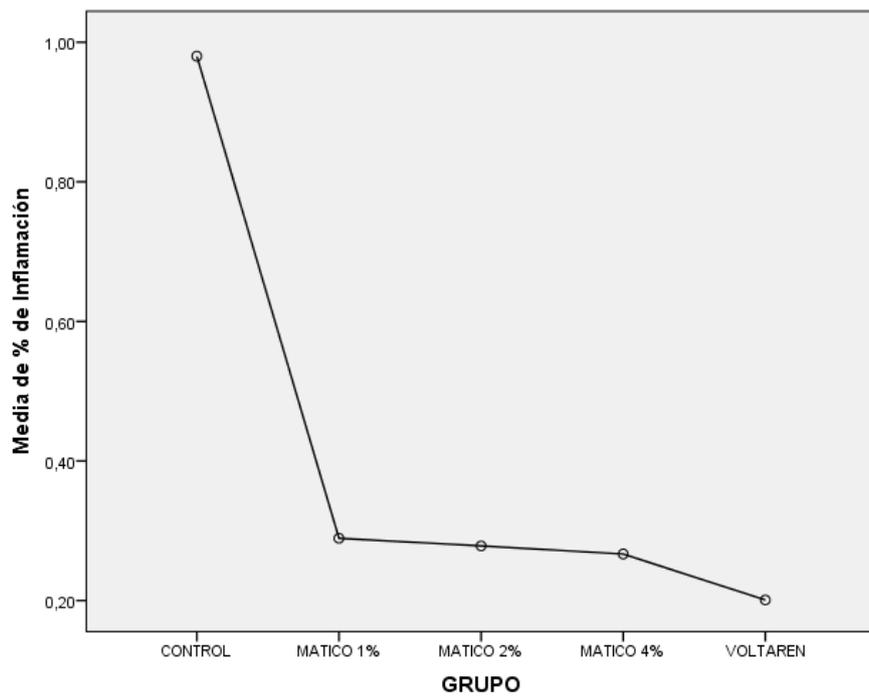


Figura 5: Grafica de medias de los grupos experimentales.

IV. DISCUSION

El edema inducido por carragenina en la pata posterior del espécimen es un modelo útil para evaluar la contribución de los mediadores implicados en los cambios vasculares asociados con la inflamación aguda. Este mecanismo inflamatorio ha sido descrito como un evento bifásico, en el que se observa una fase inicial, que no es inhibida por fármacos AINEs tales como indometacina o aspirina, y que ha sido atribuido a la liberación de histamina y serotonina. La última fase es sostenida por la liberación de prostaglandinas y mediada por bradicinina, leucotrienos, células polimorfonucleares, así como por prostaglandinas producida por los macrófagos tisulares. (Alam, 2013) (Salvemini, 1996) (Villena, 2012) Salvemini determinó que la inyección subplantar de carragenina condujo a un incremento de volumen dependiente del tiempo que tuvo un valor máximo a las 6 horas y se mantuvo elevada a partir desde entonces hasta las 10 horas (duración de la evaluación).

En la Tabla N° 1 se muestra la variación en el porcentaje de inflamación en todos los grupos de acuerdo al avance del tiempo, observándose las fases mencionadas en la inflamación obtenida en el grupo control, en la cual se aplicó el gel placebo.

Muñoz, determinó que la actividad antiinflamatoria de extracto etanólico de *Piper peltatum*, administrados por vía oral a los especímenes con inflamación inducida en la aponeurosis subplantar con solución de carragenina 1%, tuvo similar actividad antiinflamatoria respecto al grupo al

que se le administró naproxeno. El autor indica que la actividad antiinflamatoria se debe a que el extracto de *Piper peltatum* inhibe la liberación o acción de las prostaglandinas, actividad que podría estar relacionada con la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas presentes en el extracto. (Muñoz, 2014) Soto M. determinó que el contenido de flavonoides totales en la especie *Piper aduncum* fue de $2,51 \pm 0,15$ g equivalentes a quercetina por cada 100g de hoja seca. (Soto, 2015) Gil informó que algunos flavonoides tienen actividad inhibitoria en la secreción de Fosfolipasa A₂ (FLA₂), determinando que para el modelo de inducción de inflamación por carragenina, la segunda fase fue inhibida por la administración por vía oral del flavonoide morelloflavone. Esta inhibición se registró con una potencia inferior a la de indometacina. (Gil, 1997) (Rathee, 2009)

Se realizó un estudio orientado a determinar la eficacia antibacterial y antiinflamatoria del extracto metanólico de 8 especies del genero *Piper*. Los modelos empleados para la inducción de la inflamación aguda fueron los de carragenina y dextrano, asimismo para la evaluación de la eficacia antiinflamatoria, se compararon los 8 extractos metanólicos frente a un medicamento standar (diclofenaco sódico) administrado por vía oral. Los resultados mostraron de los 8 extractos metanólicos aplicados, los que presentaron potencial actividad antiinflamatoria para la inflamación aguda inducida por carragenina fueron: *Piper longum*, *Piper sarmentosum* y *Piper argyrophyllum*. Los autores indican que el efecto se pudo deber a la supresión de la expresión de la COX-2. (Vaghasiya, 2007)

Tal como se observa en las figuras 1, 2 y 3; el porcentaje de inflamación del grupo patrón disminuyó en su totalidad a las 48 horas de inducida la inflamación, asimismo, para los grupos problema al 1%, 2% y 4%; se observó una reducción de la inflamación aproximadamente a las 60 horas de realizada la inyección de la solución de carragenina.

Las distintas concentraciones del extracto etanólico de *Piper aduncum* contribuyó a la disminución del porcentaje de inflamación, lo cual podría explicarse debido a la concentración de flavonoides presentes en las hojas de *Piper aduncum*.

La figura 4 muestra la comparación entre los efectos antiinflamatorios producidos en los grupos problema al 1%, 2% y 4%; en la cual se observan efectos similares, los cuales fueron confirmados mediante el tratamiento estadístico. En la tabla N° 2 se observa que las diferencias de medias entre el control y los demás grupos presentaron diferencias estadísticamente significativas, lo que indica que los porcentaje de inflamación del grupo control son mayores a los porcentajes de inflamación de los demás grupos (1%, 2%, 4% y patrón). Asimismo, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos problema (1%, 2% y 4%) y el patrón, por lo que se concluye que la aplicación de cualquiera de los tratamientos ocasionaría una menor inflamación que en el grupo control.

La figura 5 muestra claramente que el grupo control presenta un mayor porcentaje promedio de inflamación que los demás tratamientos.

V. CONCLUSIONES:

El gel del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* tiene efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1%, 2% y 4%, en la inflamación inducida en *Rattus rattus var. norvegicus*.

No existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antiinflamatorio de los grupos y del grupo patrón.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

González R, Martínez M, García E y Guisado R. El proceso antiinflamatorio. Revista de enfermería – Publicación de la Escuela Universitaria de Enfermería de Albacete. [Fecha de acceso: 12 de diciembre 2015]. 2003. Disponible en: <https://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm>

Farreras R. Medicina Interna. 15^{va} ed. Madrid. Ed. Farreras – Rozman, 2003. Pp. 2710

Alam B. y cols. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of Piper betle leaves. [Fecha de acceso: 22 de diciembre 2015]. Avicenna Journal Phytomed. 2013 3(2): 112–125. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4075698/>

Food and Drug Administration – FDA.LA FDA refuerza la advertencia que los medicamentos sin aspirina antiinflamatorios no esteroides (AINES) puedan causar ataques cardíacos o derrames cerebrales. [Fecha de acceso: 12 de octubre 2015]. Publicado: 9 de julio 2015. Disponible en:<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm454962.htm>

Insel P. Analgésicos - Antipiréticos y Antiinflamatorios, y Fármacos Antigotosos. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9a edición. Ed. McGraw-Hill. Pp. 661 – 672.

Health Canada. Guidance Document: Pre-market Evaluation of Hepatotoxicity in Health Products. [Fecha de acceso: 25 de febrero 2015]. 2012. Disponible en: http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/applic-demande/guide-ld/hepatotox_guide_ld-eng.php

Therapeutic Goods Administration. Accidental paracetamol poisoning.[Fecha de acceso: 25 de febrero 2015]. 2012. Disponible en: <https://www.tga.gov.au/publication-issue/medicines-safety-update-volume-3-number-4-august-2012>

Vásquez S. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Automedicación en el Perú. [Fecha de acceso 24 de agosto 2014]. 2008. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/automedicacion_junio_2008.pdf

Aguedo A y CheinS. Relación entre la automedicación para el manejo del dolor dentario y el nivel socioeconómico-cultural de los pobladores del distrito de independencia, Huaraz, 2007. [Fecha de acceso: 25 de febrero 2015]. Odontol. Sanmarquina 2008; 11(2): 78-82. Disponible en:

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2008_n2/pdf/a09v11n2.p

df

Pari R. Conducta ante el dolor dental y su relación con el nivel socioeconómico-cultural de los pobladores del distrito de Juliaca-Puno 2010. Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. Odontología.

Luza L. Manejo del dolor dental en relación al nivel socioeconómico-cultural de pobladores en la zona urbana de la provincia de Huamanga-Ayacucho. 2012. Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. Odontología.

Miní E. y cols. Automedicación en gestantes que acuden al Instituto Nacional Materno Perinatal, Perú 2011. RevPeruMedExp Salud Publica. 2012; 29(2):212-17. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/v29n2/a07v29n2>

Nigenda y cols. La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. [Fecha de acceso: 21 de enero 2016]

Instituto Nacional de Salud - INS. Medicina Tradicional. [Fecha de acceso: 20 de enero 2016]. 2014. Lima. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/portal/jerarquia/7/53/medicina-tradicional/jer.53>

Guillermo R. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R et. P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. [Fecha de acceso: 15 de Noviembre 2015] 2002. Lima. Disponible en:

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/quillermo_n_r/t_compl_eto.pdf

Lock O. Investigación Fitoquímica. 2^{da}. ed. Lima. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. 3 - 20.

Arroyo J. Efecto protector en cirrosis hepática inducida en ratas del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* comparado con silimarina. AnFacMed (Lima) 2012; 72(2): 85 – 91.

Núñez M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Piper elongatum* (Matico) administrado por vía oral, comparado con indometacina en Cobayos. [Fecha de acceso: 18 de diciembre 2015]. 2001. Sao Paulo. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILAC&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=336751&indexSearch=ID>

Rodrigues D. Chemical Composition and Antimicrobial Properties of *Piper ovatum* Vahl.[Fecha de acceso: 18 de Diciembre 2015]. Molecules 2009,

14, 1171-1182. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1234738>

Iraceh J. Formas farmacéuticas destinadas a la vía percutánea. Navarra. [Fecha de acceso: 23 de octubre 2015]. 2005. Disponible en: <http://www.unav.es/adi/UserFiles/File/80962510/11-cutaneo.pdf>

Sánchez A. Capítulo 12: Técnicas de recolecta de plantas y herborización. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México [Fecha de acceso: 26 de noviembre 2015]. 2007. Disponible en: <http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/6082/Capitulo12.pdf>

Mc Cabe. Operaciones unitarias en ingeniería química. 7ma. ed. México. Mc Graw Hill; 2002. 799 – 826.

Cook R. Farmacia práctica de Remington. 10a ed. Unión Tipográfica; 1953. Pp. 661 – 662.

Villena C. y Arroyo J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. [Fecha de acceso: 18 de diciembre 2015]. Lima - 2012. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v15_n1/pdf/a03v15n1.pdf

Ministerio de Salud – MINSA. Instituto Nacional de Salud. Guía de manejo y cuidado de animales de Laboratorio: ratón. Lima – 2008. Pp. 19 – 21.

Salvemini D. y cols. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. [Fecha de acceso: 22 de diciembre 2015]. British Journal of Pharmacology. 1996.118(4):829-838. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1909531/>

Muñoz M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de santa maría (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). Tesis de grado para la obtención del título de bioquímico farmacéutico. [Fecha de acceso: 21 de diciembre 2015]. 2014. Ecuador. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3197?show=full>

Soto M. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. [Fecha de acceso: 22 de diciembre 2015]. In Crescendo. Institucional. 2015; 6(1): 33-43. Disponible en: <http://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendo/article/view/824/0>

Gil B., Sanz MJ, Terencio MC, Gunasegaran R, Payá M, Alcaraz MJ. Morelloflavone, a novel biflavonoid inhibitor of human secretory phospholipase A2 with anti-inflammatory activity.[Fecha de acceso: 12 de

enero 2016]. *Biochem Pharmacol.* 1997 Mar 7;53(5):733-40. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9113093>

Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V. y Kohli K. Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review. [Fecha de acceso: 12 de enero 2016]. *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 2009, 8, 229-235. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/26670516_Mechanism_of_Action_of_Flavonoids_as_Anti-inflammatory_Agents_A_Review

Vaghasiya Y., Nair R. y Chanda S. Investigation of some *Piper* Species for Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Property.[Fecha de acceso 23 de diciembre 2015]. *International Journal of Pharmacology* 2007; 3(5) 400-405. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/45947978_Investigation_of_Some_Piper_Species_for_Anti-Bacterial_and_Anti-Inflammatory_Property

ANEXOS

Anexo 1

Certificado sanitario de los animales de experimentación

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

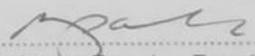
CERTIFICADO SANITARIO N° 082-2015

Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 03 - 2015
Especie	: <i>Rattus norvegicus</i>	Cantidad	: 60
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 meses
Peso	: 140 a 190 g.	Sexo	: Machos (30) Hembras (30)
G.R.	: 030983	Destino	: Avalos Capristan, César Trujillo
Lima	: 17-03-2015		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 17 de Marzo del 2015
(Fecha de emisión del certificado)

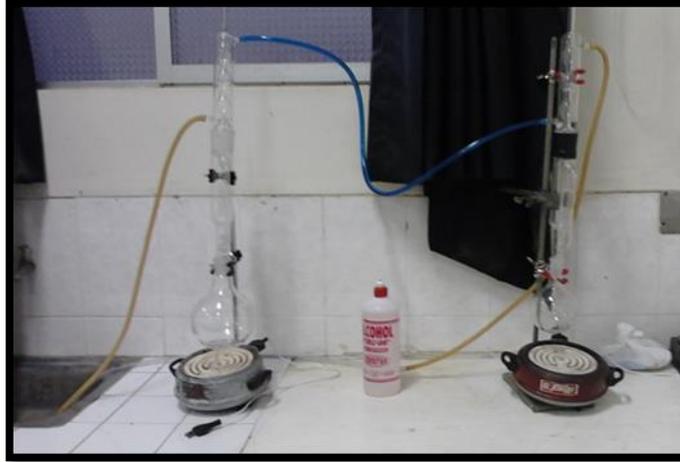

M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

Anexo 2

Identificación del material botánico en el Herbarium Truxillense de Trujillo





Equipo Soxhlet empleado



Pesada del polvo de hojas de *Piper aduncum* y preparación del “cartucho” listo para la ser introducido al equipo soxhlet



Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum*



Evaporación del etanol en Baño María



Extracto blando obtenido



Pesada y acondicionamiento de la muestra



Dilución del extracto etanólico



Control de pH del gel y la posterior incorporación del extracto etanólico al gel



Especímenes de *Rattus rattus* var. *norvegicus*



Inmovilización de *Rattus rattus* var. *norvegicus*



Inducción de la inflamación mediante la aplicación de la solución de carragenina 1%

Anexo 4

Prueba t para diferencia de medias

✓ Cálculo de los grados de libertad (gl)

$$g.l. = \frac{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2}{(s_1^2/n_1)^2/(n_1 - 1) + (s_2^2/n_2)^2/(n_2 - 1)}$$

✓ Grupo control frente a grupo patrón:

Prueba T para la igualdad de medias						
t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
5,764	17,153	0,000	0,77917	0,13517	0,49417	1,06416

La comparación entre los grupos problema y el grupo patrón presentó diferencias estadísticamente significativas entre sí, respecto a la disminución del porcentaje de inflamación.

✓ Grupo Problema 1% frente al grupo patrón:

Prueba T para la igualdad de medias						
T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,906	21,783	0,375	0,08833	0,09751	-0.11400	0.29067

✓ Grupo problema 2% frente al grupo patrón:

Prueba T para la igualdad de medias						
t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,824	21,978	0,419	0,07750	0,09402	-0.11750	0.27250

✓ **Grupo problema 4% frente al grupo patrón**

Prueba T para la igualdad de medias						
t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,724	21,972	0.477	0,06583	0,09090	-0.12270	0.25437

Se realizaron comparaciones entre los grupos problema, observándose que no existen diferencias significativas entre los efectos de los tratamientos.

✓ **Grupo problema 1% frente al grupo problema 2%**

Prueba T para la igualdad de medias						
t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,126	21.900	0.901	0.01167	0.09243	-0.18008	0.20342

✓ **Grupo problema 1% frente al grupo problema 4%**

Prueba T para la igualdad de medias						
T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,234	21.606	0.817	0.02250	0.09598	-0.17676	0.22176

✓ **Grupo problema 2% frente al grupo problema 4%**

Prueba T para la igualdad de medias						
T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
0,109	21.898	0.914	0.01083	0.09894	-0.19440	0.21607