



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA.

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DE EXTRACTO ACUOSO
DE HOJA SANTA (*Piper auritum* HBK) EN RATONES CEPA CD 1.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO**

PRESENTA:

Raúl Morillón Hernández

DIRECTOR DE TESIS:

DR. Rubén Marroquín Segura

ASESOR DE TESIS:

M. en C. Balbina Vázquez Benítez

FES ZARAGOZA, 2017.



CIUDAD DE MÉXICO

CDMX AGOSTO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO:	Págs.
Resumen	1
I. Introducción	1
II. Marco teórico	2
2.1. Medicina tradicional.....	2
2.2 Farmacognosia.....	4
III. Hoja santa (<i>Piper auritum</i> Kunth)	6
3.1 clasificación.....	6
3.2 Descripción botánica de la hoja santa (<i>Piper auritum</i> Kunth).....	6
3.3 Usos medicinales y culinarios.....	7
3.4 Metabolitos secundarios de la hoja santa.....	8
IV. Absorción de medicamentos	11
V Técnicas de extracción de metabolitos de plantas medicinales	12
VI. Inflamación	16
6.1 Funciones de la inflamación.....	16
6.2 Tipos de inflamación.....	17
6.3 Mediadores químicos del proceso de inflamación.....	19
VII. Metabolismo de fármacos en órganos principales	20
VIII. Antiinflamatorios	21
IX. Dosis efectiva, tóxica y letal	23
X. Hipótesis y objetivos	24

XI. Metodología.....	25
11.1 Obtención del extracto acuoso de <i>Piper auritum Kunth</i>	25
11.2 Ensayo crónico.....	25
11.2.1. Determinación de ceruloplasmina.....	26
11.2.2. Determinación de nitritos por el método de Griess' s.....	27
11.2.3. Determinación de NO ₂ en suero de ratón.....	28
11.3 Ensayo agudo.....	29
XII. Resultados.....	30
12.1 Extracto acuoso de hoja santa(<i>Piper auritum Kunth</i>).....	30
12.2 Ensayo crónico.....	30
12.3 Ensayo agudo.....	42
XIII Análisis de resultados.....	50
13.1 Extracto acuoso de hoja santa(<i>Piper auritum Kunth</i>).....	50
13.2 Ensayo crónico.....	50
13.3 Ensayo agudo.....	51
XIV Conclusiones.....	52
XV Referencias bibliográficas.....	54
XVI. Anexos.....	58

Dedicatorias

Ante todo agradezco primeramente al dios creador del Higgs, el mismo dios dulce y amoroso que freno la luz para que los átomos que estuvieron en cada aspecto de mi vida en el alma y en la materia para realizar mi tesis y en aprender muchas cosas, y qué pesar de mis pecados me dio la oportunidad de terminar este ciclo de una manera dolorosa, llena de lágrimas y sufrimiento ante la depresión que estoy superando pero que me ha ayudado a comprender y a tratar de entender las cosas que no entiendo de la vida, agradezco con todo mi amor y corazón a mis padres José Jaime Morillón Cervantes que siempre ha sido mi ejemplo de perseverancia a mi madre Eulalia Hernández Rodríguez por ser quien me ha impulsado con la fortaleza de su amor a seguir adelante y solo le pido que dios los guarde en el cielo libre del Higgs, también agradezco y dedico este pequeño logro desde el glorioso cielo de la eternidad donde está mi abuelito Crisóforo Hernández Hernández, al igual que mi abuelita Guadalupe Rodríguez Martínez quien sigue siendo dulce y amorosa, a todas mis tías Yolanda, Alejandra, Eva, Margarita, Jovita y Irma, a mi padrino Gabriel Hernández Rodríguez y familia y a mis otros tíos que son buenos han sido parte de mi vida Rogaciano, Carlos, Pedro, Antonio, Sergio y mi tío Roberto quien en cielo esta, y primos Guadalupe, Carlos, Ángel, Iván, Sergio y Andrea al igual que a mi primo Alejandro Cerón Hernández quien estuvo apoyándome en los momentos más oscuros de mi vida al igual como la gran persona que es, a mi primo David Ríos Hernández quien también me ayudo a recordar muchas cosas de la vida y mis primas Miriam y Familia y Ceci y familia, también a Yaremi Morillón Rosales y familia quien no deja de orar por mí y su hermano Jorge Morillón Rosales y familia. A mis abuelitos Jaime Morillón Cortes y María Cervantes Susano y mis tios Felipe Morillon Cervantes, Victor Morillón Cervantes y primos Víctor y Yair y mi tía Blanca. Dedico esta tesis también a mi hermana mi linda hermana que ha estado apoyándome fuerte y con energía y regaños no tengo palabras con que agradecer el gran amor y apoyo que le tengo a mi hermana Erika Morillón Hernández y a su señor esposo Rafael Olvera Barrios.

Dedico con amor humildad con lágrimas y todo el respeto este pequeño logro a los grandes y humanos investigadores orgullo de la UNAM Y FEZ ZARAGOZA al Dr. Rubén Marroquín Segura, Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara, Mtra. Yolanda Flores Cabrera, Lic. Armando Ramírez Gonzales, Maurilio Flores Pimentel por cada día que me hicieron reír dios del Higgs guarde sus almas y sus investigaciones

Al Dr. Arcadio Monroy Ata por impulsarme y ser una gran persona ejemplo para mí.

También dedico esta tesis y agradezco con lágrimas y recuerdos a mis compañeros de mi generación al Lic. Pedro Rojas Lorenzo Lic. Aline Sánchez Viazcan. M en C Tonancy Nicolás Méndez, Lic. Samuel Juárez Martínez, Lic. Rafael, Lic. David Sánchez Martínez, M en C. Eduardo Lic. Misael Amir García, Lic. Aritana Arvea y amigas.

A cada sinodal que con humildad y aceptación en sus correcciones agradezco con todo mi corazón para hacer mejor persona porque sin ustedes no podría llegar a ser quien soy todo mi respeto, admiración y aceptación

M en C Rosalva Rangel Corona, Dr. Rubén Marroquín Segura, Dra. Hortensia Rosas Acevedo, M en C María Magdalena Ayala Hernández y M en C Balbina Vázquez Benítez.

RESUMEN

Piper auritum es una especie nativa de México, usada ampliamente como planta medicinal y alimenticia. En medicina tradicional se ha empleado en la salud reproductiva femenina, para combatir dolores de cabeza, mordeduras de serpientes y resfriados. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto acuoso en crudo de la hoja santa (*Piper auritum* Kunth) en ratones albinos machos cepa CD1. Se emplearon dosis efectivas (ED) cuyas concentraciones fueron de 20, 40 y 80 mg/kg, administradas por vía oral mediante el uso de sonda gástrica para combatir procesos inflamatorios agudos y crónicos. Se utilizaron modelos experimentales, como el edema subplantar administrando carragenina al 1% para el proceso agudo midiendo grosor de la extremidad cada hora por 5 horas y para el proceso crónico se usaron varias variables como granuloma inducido por pellets de algodón y determinaciones de concentraciones en suero de proteínas de fase aguda en hígado como la ceruloplasmina y radicales libres como el NO₂. Los resultados de los modelos de inflamación crónica y aguda fueron comparados con dos antiinflamatorios de uso comercial hidrocortisona e indometacina. En el modelo de inflamación crónica no se presentaron diferencias significativas con respecto a los órganos extraídos respecto a los índices esplénicos, cardiacos, renales, hepáticos ni con los marcadores de daño en hígado como fueron ceruloplasmina y nitritos en el proceso de inflamación crónica al administrar los tratamientos por un periodo de 10 días solo encontrando un marcado descenso en los pesos corporales de los individuos tratados con la dosis de 80 mg/kg con respecto en el antiinflamatorio esteroideo de uso comercial hidrocortisona de 15 mg/kg. Se encontró actividad en el modelo de inflamación agudo en dosis de 20 mg/kg teniendo diferencias significativas a la 1, 2, 4 y 5 hrs un promedio de inhibición del 92% respecto al antiinflamatorio no esteroideo de uso comercial indometacina el cual tuvo un 76 % de inhibición sobre el edema de la pata en casi todo el ensayo. Conclusión el extracto acuoso no posee efecto antiinflamatorio en pero si posee un efecto diurético a largo plazo parecido al del antiinflamatorio hidrocortisona de uso comercial en el ensayo crónico, pero si posee un efecto antiinflamatorio superior al antiinflamatorio indometacina en tiempos cortos en el ensayo agudo

INTRODUCCIÓN

Una de las aportaciones que trajo el desarrollo de la agricultura hace 8 mil años para el ser humano, fue el desarrollo de las primeras civilizaciones y la búsqueda y descubrimiento de nuevos remedios que asistieran en las enfermedades y padecimientos que le provocaban gran mortandad cuando el hombre tenía una vida nómada, para ello las medicinas naturales principalmente de origen vegetal y animal jugaron un papel primordial durante milenios, hasta siglo XIX donde la industria farmacéutica nace como tal, alcanzando su auge en el siglo XX. Es en este mismo siglo donde la medicina tradicional fue separada de la medicina con carácter científico. La medicina tradicional también llamada medicina herbolaria se ha caracterizado por estar presente en la mayoría de las civilizaciones del mundo desde tiempos antiguos. Dicha medicina se base fundamentalmente en el empleo de hierbas.

Actualmente la medicina herbolaria en sus nuevas modalidades como lo es la homeopatía y demás medicinas alternativas están teniendo en pleno siglo XXI un mayor auge debido a las nuevas tendencias y planteamientos respecto al tratamiento de enfermedades tanto antiguas, como modernas que exige esta nueva sociedad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que alrededor del 80% de la población mundial emplea plantas medicinales para resolver problemas de salud.

El planteamiento moderno sobre el uso de la medicina herbolaria está enmarcado en el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales propios de las comunidades sociales en cada país. México como país mega diverso posee un extraordinario acervo de plantas con alto potencial para ser estudiadas y documentar sus usos en medicina. De hecho, en nuestro país existe una reconocida tradición del empleo de plantas medicinales entre sus pobladores debido a que son más accesibles que la medicina de patente. Así, en México se han registrado más de 4 mil especies con usos medicinales.

El empleo de hierbas como remedios para combatir diversas enfermedades principalmente para aliviar el dolor e inflamación, frecuentemente se basa en que su consumo es inocuo, saludable, natural y no se espera que cause daños secundarios, lo cual no siempre es verdadero. Son numerosas las especies vegetales que contienen compuestos letales para la vida. Por ello es importante evaluar el efecto que tienen en distintas dosis y tipos de preparaciones, así como documentar las consecuencias secundarias de su consumo.

II.MARCO TEÓRICO

2.1. Medicina tradicional

El uso de plantas medicinales viene desde la antigüedad hasta hoy en día, el género humano ha empleado a las plantas como medicamentos a través de ensayo y error. El conocimiento actual que se tiene en la sobre la herbolaria ha sido producto de las experiencias transmitidas oralmente o por escrituras de las diversas civilizaciones del mundo. Esta práctica médica pasaba y se perfeccionaba de generación en generación por lo cual se denominó *medicina tradicional*. Todas las culturas han adquirido un conocimiento medicinal de las plantas nativas, propias de su entorno ambiental. Se ha aprendido a emplear determinadas estructuras de los vegetales así como formas de preparación y este acervo de información forma parte de la identidad cultural. (Carhuapoma y Angulo, 1999; Fonnegra y Jiménez, 2007)

Los documentos escritos más antiguos sobre plantas medicinales se remontan a 6000 años. Básicamente se distinguen cuatro áreas principales de la medicina tradicional: la china, indú, europea y americana (Carhuapoma y Angulo, 1999; Fonnegra y Jiménez, 2007). De las culturas que se desarrollaron en estas áreas geográficas surgen los primeros remedios herbolarios que se comercializaron con la finalidad de obtener beneficios para la salud. Se han registrado alrededor de mil cuatrocientas plantas diferentes en la herbolaria, de los cuales solo unos cuantas han sido probados científicamente

El uso de plantas medicinales en el tiempo tiene una larga historia. En China, la práctica de la medicina herbal se volvió un arte que se remonta a más de 5000 años. El emperador Shengmong Jing de la dinastía Han, fue de los primeros personajes en interesarse en las propiedades medicinales de las plantas y formó un herbario en el año 2700 antes de nuestra Era. Entre los testimonios médicos y farmacéuticos de los antiguos egipcios, destaca el famoso papyrus de Ebers escrito durante la dinastía XVIII (1500 a.C) y. Los productos empleados como fármacos medicinales fueron extraídos de animales y de rocas minerales, pero sobre todo de vegetales. La mayoría de estos preparados son para uso externo, aunque también se establecieron las pautas de la medicación interna. Algunas de las plantas registradas allí, como el ajo y las semillas de amapola aún se siguen empleando en la actualidad (Mendoza, 2008).

En el antiguo Egipto existía una práctica real y organizada de la farmacia que era coordinada por personas especializadas en la elaboración y preparación de productos medicinales. Estas personas eran llamadas los Ph- Ar- MaKi, término que posteriormente se convertiría en “farmacia” (Stewart *et al.*, 1998).

En la Grecia Antigua, destacó Hipócrates, considerado el médico más importante de la antigüedad y es llamado padre de la medicina. Hipócrates se opuso al esquema de considerar a las enfermedades como castigo de los dioses y explica la falta de salud como una consecuencia de los hábitos alimenticios y del ambiente. Explica las enfermedades en función de cuatro humores que son sangre, flema, bilis negra y bilis amarilla. Cuando estos fluidos no están en equilibrio en el cuerpo humano se genera alguna enfermedad. Entre los fármacos conocidos en la época de Hipócrates se citan el opio, genciana, beleño, azufre y arsénico. Los médicos griegos utilizaron el término *Pharmakon*, palabra que encierra el doble significado veneno y medicamento. Ellos sabían que la sustancia que proporciona el alivio a la enfermedad es capaz de causar la muerte (Carvajal, 1993).

Dioscorides fue considerado el padre de la farmacognosia, por su obra *De Materia Médica*, donde describe cerca de 600 plantas, 35 fármacos de origen animal y 90 de origen mineral que clasificó de acuerdo a la semejanza de sus acciones. En su obra, agrupó todo el saber farmacobotánico de la época. Describió varias propiedades medicinales, algunas de las cuales se usan actualmente por ejemplo el *opium*, *hyoscyamus*, *ergot* y describió la preparación de medicamentos en los cuales se utilizan operaciones químicas como: sublimación, cristalización, baño maría, destilación y extracción (Carhuapoma;Angulo, 1999;Carvajal, 1993).

En los últimos años, la información sobre los productos químicos bioactivos de plantas ha crecido de manera constante, en parte se ha incrementado el interés en los remedios a base de hierbas y en la identificación de nuevos enfoques a los problemas médicos (Klaaseen, 2008)

2.2 Farmacognosia

La farmacognosia estudia básicamente el origen, composición y características químicas de fármacos provenientes de vegetales y animales que pueden poseer un potencial terapéutico o aplicación en la industria farmacéutica. La disciplina de la farmacognosia repercute directamente en las ciencias médicas. El término farmacognosia proviene de la palabra griega *pharmakon* que significa remedio y de *gnosis* que quiere decir conocimiento, por lo tanto la farmacognosia es el “conocimiento de los fármacos”. En un sentido más amplio, esta disciplina estudia la historia, el cultivo, la recolección, preparación, preservación, comercialización, distribución, identificación y evaluación de los componentes químicos de origen natural (Cortez-Gallardo *et al.*, 2004). Los orígenes de la farmacognosia se ubican por consiguiente en la Antigüedad (Fonnegra y Jiménez 2007).

Con respecto a los fármacos de origen vegetal, las plantas son la mayor fuente de medicamentos conocida, basta decir que en la actualidad la búsqueda de principios activos para la cura de muchas enfermedades, inicia a menudo con la investigación de un principio activo de origen vegetal o derivado de estos. La farmacognosia ha abordado el estudio de la biosíntesis y la estructura molecular de las drogas

naturales, lo cual ha permitido sintetizar compuestos análogos con una mayor actividad biológica y potencia terapéutica. A partir de 1950 se considera que la síntesis química de los productos identificados inicialmente en plantas desplaza el uso de los vegetales como fuente principal de medicamentos. Así, varios anestésicos locales como la procaína, la benzocaína y la lidocaína se sintetizaron a partir de la estructura del alcaloide aislado de *Erythroxylon coca* (Cortez-Gallardo *et al.*, 2004). En otros casos, el empleo de plantas persiste como fuente de drogas medicinales, como es *Digitalis purpureum* que por su contenido de glucósidos no ha podido ser sintetizado como droga de naturaleza cardiotónica a pesar de los avances actuales de la farmacognosia. Otro ejemplo lo constituye la adormidera *Paver somniferum*, de cuyas capsulas inmaduras se obtiene el opio, del cual deriva un alcaloide denominado morfina, droga que es utilizada como analgésica y narcótica, y que es más efectiva que otros productos afines a su estructura y que se han producido a través de síntesis química (Fonnegra y Jiménez, 2007). La mayoría de los fármacos utilizados en la medicina veterinaria, así como en la humana tienen su origen a partir de las plantas, animales, y algunos son de procedencia mineral. Debe mencionarse que los medicamentos utilizados en la actualidad son sintetizados por profesionales en química, probados y seleccionados por los farmacólogos y los toxicólogos y es el químico farmacéutico quien se encarga de determinar su dosificación terapéutica para luego ser valorados por el investigador clínico y una vez que los medicamentos han superado todas estas etapas y han obtenido el visto bueno de cada uno de estos profesionales, se permite entonces su comercialización (Fonnegra y Jiménez, 2007).

En relación con la palabra fármaco, se define como toda aquella sustancia de naturaleza química (natural o sintética) que se incorpora en los organismos biológicos con la finalidad de curar, prevenir o mitigar los ataques de las enfermedades y los efectos que estas ocasionan. De acuerdo con lo anterior la farmacología veterinaria, en esencia de lo que trata es de corregir por medio de la utilización de drogas, aquellas alteraciones fisiológicas que causan las enfermedades de los diversos órganos, aparatos y demás sistemas que componen el organismo de los animales. Desde el punto de vista farmacológico se ha establecido que la administración al paciente de un compuesto medicinal (puro) permitía una mejor dosificación del medicamento y facilitaba el control de su toxicidad, a diferencia de lo que ocurría con el uso de extractos, normalmente usados en crudo, cuya dosificación presentaba serias dificultades. El conjunto de todas estas ideas y proyectos determinó que la investigación de nuevas plantas medicinales dejara poco a poco de ser una actividad prioritaria, por lo que el interés de los investigadores y la asignación de recursos económicos se dirigieron preferentemente hacia la química de síntesis. Esta estrategia se aplicó entre los años 1950 y 1970 repercutiendo en el sector médico que considero desde entonces a las plantas medicinales como recursos primitivos y de poca utilidad terapéutica (Carhuapoma y Angulo, 1999).

III. Hoja santa (*Piper auritum* Kunth)

3.1 Clasificación

Clase: Equisetopsida

Subclase : Magnoliidae

Superorden: Magnolianaes

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae Giseke

Genero: Piper

Especies: *Piper auritum* Kunth

Variedad Taxonomica : *Piper auritum* var. *amplifolium* C. DC.

Forma: *Piper auritum* fo. *auritum*

Variedad: *Piper auritum* var. *auritum*

Forma: *Piper auritum* fo. *rinconense* Trel.

Variedad *Piper auritum* var. *schiedeanum* C. DC.

Variedad: *Piper auritum* var. *seemannianum* (Miq.) Trel.

Clasificación científica de la hoja santa tomada de (<http://tropicos.org/Name/25002010>)

3.2 Descripción botánica de la hoja santa (*Piper auritum* Kunth)

Piper auritum pertenece a la familia Piperaceae y es comúnmente conocida como Acoyo, Acoyo cimarrón, Acuyo, Anisillo, Cordoncillo, Corrimiento, Hierba anís, Hierba santa, Higuierilla, Hoja de Santa María, Hoja de estrella, Hoja del cáncer, Quelite (Español) Mecaxóchitl, Tlamapaquilitl, Tlanepaquilitl, Xalacuahuitl, Xalcuáhuitl (Náhuatl) Mak'ulan, Máakulan, X-mak'ulam, Xmaculán (Maya) Jinan, Jínan (Totonaco). (Quisbert, 2006; <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6030477>).

Es una planta nativa de México. El término genérico *Piper* deriva del latín y significa “pimienta”, y el epíteto específico *auritum* significa “oreja” en alusión a las hojas largas (Quisbert, 2006).

Piper auritum es una especie herbácea, semileñosa o arbusto siempreverde de hasta 6 metros de altura, con tallos nudosos y frecuentemente con raíces adventicias. Las hojas de 20-35 cm, simples, alternas, de dimensiones y formas variables, obovadas, oblongas o cordadas unidas a un peciolo largo, margen entero, lóbulos basales redondeados, con la superficie pubescente, aromáticas. La inflorescencia es una espiga de 2-8 cm de largo, opuesta a las hojas, arqueadas o péndulas. Cada espiga consta de numerosas flores minúsculas, blanquecinas o verde pálido, densamente dispuestas en el raquis (Figura. 1). Las flores individuales no tienen sépalos o pétalos. Los frutos son drupas de menos de 1 mm de diámetro. Se distribuye en bosques húmedos, en elevaciones de 0 a 1300 m. Su distribución comprende el sur y sureste

de México hasta Colombia. Ha sido cultivada y naturalizada en Cuba y en el estado de Florida, E. U. A. (Callejas, 2001).

3.3 Usos medicinales y culinarios de la hoja santa (*Piper auritum* Kunth).

La hoja santa suele usarse en comunidades rurales en padecimientos como inflamación, infección de la matriz, para baños de parturientas, dolor de estómago, estreñimiento, para el asma, laringitis, reumatismo, en mordeduras de víbora, dolores musculares y quemaduras (Germosén, 2014).

Las hojas de *Piper auritum* Kunth contienen elevadas concentraciones de safrol. Los tallos despiden un fuerte olor a anís al ser machacados. Aunque se han reportado diversos usos de esta planta en las áreas de su distribución, aún no se ha verificado su eficacia y seguridad, especialmente cuando hay reportes de que los safroles son cancerógenos en algunos animales (Denslow y Duane, 2006).

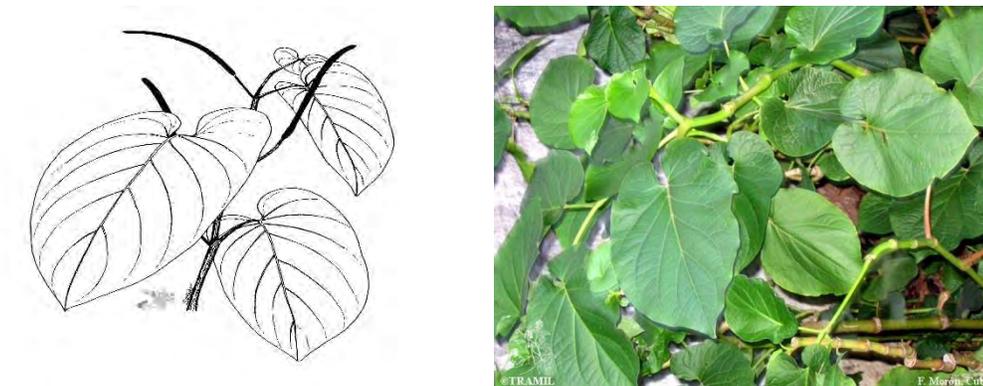


Figura 1. Esquema y fotografía de la hoja santa (*Piper auritum*) (Quisbert, 2006).

En los estados de Oaxaca, Quintana Roo y Veracruz la hierba santa se emplea en remedios que van desde el alivio de granos en la piel, hasta afecciones de la salud reproductiva de la mujer como inflamación de la vagina o infección de la matriz, para después del parto, como galactógeno y para acelerar el parto, en este caso, las hojas se remojan en aguardiente o mezcal. Las hojas también se usan para tratar mordeduras de serpientes, dolores de cabeza y resfriados y en infusión contra la hipertensión. Las raíces machacadas tienen un efecto anestésico y se usan para aliviar picaduras de insectos y dolores de muela. Además, se utiliza como planta de sombra en cafetales. Las hojas frescas se usan para aliviar dolores de cabeza y desinflamar heridas; las semillas pulverizadas junto con jengibre se utilizan para el escorbuto y la atonía digestiva y las hojas fritas con almendras para curar cólicos del hígado (Germosen, 2005, Chizmar 2009; mediciantradicionalmexicana.unam.mx 2012).

Las hojas de *Piper auritum* se consumen tiernas e incorporadas en sopas y caldos, utilizándose como condimento o saborizante para carnes. Las hojas también se consumen fritas para acompañar con otras comidas. Otra forma de consumo es envolviendo la carne de pollo o de pescado sazonados con tomate y ajo en una hoja de esta planta, luego se amarra y se le rodea con una hoja de plátano para que se sostengan bien todos los ingredientes. Finalmente, se coloca sobre una plataforma dentro de una olla con poca agua para cocinarlo con el vapor o en baño de maría por más o menos una hora a este plato se le llama pollo o pescado en baché también de consume en mole verde oaxaqueño. El tallo tierno se utiliza en ensaladas de vegetales, para lo cual se le quita la corteza, se parte en rodajas y se mezcla con los demás vegetales. La hoja se utiliza para envolver tamales de masa de maíz, por el sabor agradable que les da (Chízmar, 2009; Quintana.P,Carol.W.H 1989).

3.4. Metabolitos secundarios presentes en la hoja santa (*Piper auritum* Kunth)

Los metabolitos secundarios encontrados en mayor porcentaje en el aceite esencial en la hoja santa y sus inflorescencias, son de tipo aromático, sustituidos por grupos alquilo y alilo, además se observa alto contenido de compuestos oxigenados.

La hoja santa contiene compuesto safrol un aceite esencial, el cual se concentra más en las hojas de la planta además de que se han encontrado otros compuestos en menor cantidad como elemicina eugenol y miristicina, borneol, acetato de borneol, 5-cadineno, canfeno, acadina-1-4-dieno, β -bisaboleno, β -borboneno, cariofileno; diterpenos: transfitol; fenólicos: aurantiamida I y II; esteroides: β -sitosterol; bencenoides: ácido pipericoico; flavonoides: derivado de flavona; alcanos: n-hexadecano, nonan-2-ona; heterociclos oxigenados: ácido piperocromanoico y Piperocromenoico la planta entera contiene alcaloides: aporfina⁶; aceite esencial (0.47-0.58%): cefaradiona A y B₃ (Germosen *et al.*, 2005; García *et al.*, 2007), investigaron los componentes obtenidos del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth, así como el porcentaje relativo encontrado en hojas e inflorescencias (Germosen *et al.*, 2005). En el cuadro 1, se muestran los datos de ese estudio (García *et al.*, 2007), investigaron los componentes por HPLC obtenidos del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth, así como el porcentaje relativo encontrado en hojas e inflorescencias (cuadro 2), así también se muestran los datos de ese estudio, respecto al índice nutricional mostrado en el (cuadro 1) se puede observar la gran cantidad de nutrientes por cada 100g de hoja (Germosen *et al.*, 2005).

Componentes nutricionales de la hoja santa(<i>Piper auritum Kunth</i>) por cada 100g de hoja	Unidades
Agua	80.4g
Proteínas	4.25g
Grasas	1.82g
carbohidratos	8.25g
Fibras	2.8g
Cenizas	2.48g
Calcio	317mg
Fosforo	46mg
Hierro	4.8mg
Sodio	18mg
Caroteno	5.95mg
Damina	0.12mg
rivoflamina	0.28mg
Niacina	1.97mg
ácido ascórbico	49mg

Cuadro 1: Análisis nutricional de los componentes de la hoja de *Piper auritum*, se ha encontrado en 100 g tomado de (Germosen *et al.*, 2005).

La concentración de safrol en las hojas de esta especie es similar a la de *Sassafras albidum*, cuyo aceite obtenido de la corteza de la raíz contiene aproximadamente el 5-9% de aceite volátil compuesto principalmente de safrol (80-85%) junto con alcanfor 3%, metileugenol 1% y cantidades menores de monoterpenos (α -canfeno, β -pineno, 1,8-cineol. ρ -cimeno) y compuestos de sesquiterpenos distintos

metileugenol. El contenido de safrol en infusiones elaboradas a partir de la corteza de la raíz de sazafrás es variable y las concentraciones van desde 0.09-4.66 mg/taza. En las infusiones elaboradas con hojas, las concentraciones de safrol no son detectables (es decir 1.5ng / ml). El safrol está también presente en *Illicium vera* (anis estrella), *Cuminum cyminum* (comino), *Myristica fragrans* (nuez moscada), *Piper nigrum* (pimienta negra) y *Zingiber officinale* (jengibre), todas estas especies de marcado uso culinario (Nair, 1989; Barcelux, 2008; Márquez, 2011).

Cuadro 2. Composición química del aceite esencial de *Piper auritum* (Tomado de García *et al.*, 2007).

Componente	Cantidad relativa hojas (%)	Cantidad relativa inflorescencia (%)
2- <i>E</i> -Hexanal	0.05	--
α -Terpineno	0.06	0.09
<i>p</i> -Cimeno	0.06	0.10
γ -Terpineno	0.28	0.32
Terpinoleno	0.21	0.22
2-Nonanona	0.22	0.07
Nonanal	--	0.08
Safrol	93.24	90.30
α -Copaeno	0.10	0.05
Metil eugenol	0.46	0.5
<i>trans</i> - β -Cariofileno	0.20	0.18
<i>n</i> -Pentadecano	0.11	0.40
Miristicina	4.34	5.84
Elemicina	0.09	0.55

El safrol es un líquido claro incoloro o ligeramente amarillo con un olor aromático del compuesto sazafrás, es insoluble en agua. Tanto el safrol y su metabolito próximo, 1'-hidroxisafrol son cancerígenos en modelos animales. La absorción y eliminación de dosis bajas de safrol en los seres humanos es rápida. En un estudio con voluntarios, una dosis de 1.66 mg de safrol se elimina en la orina dentro de las 24 horas con conjugado 1, 2-dihydrodxy-4-alilbenceno siendo el principal metabolito urinario figura 3 (Barcelux, 2008; Wislock *et al* 1976).

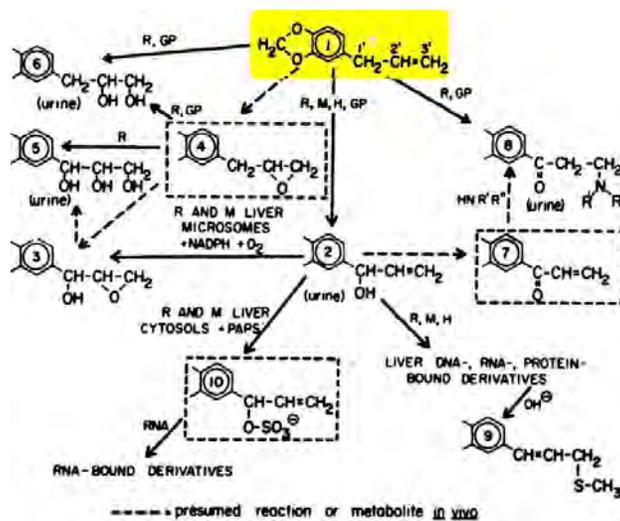


Figura 3. Muestra el compuesto safrol en amarillo metabolito de mayor concentración en la hoja santa *Piper auritum kunth* y los metabolitos que se producen en el hígado de humano y hámster chino imagen tomada t de Wislock *et al* 1976).

IV. Absorción de medicamentos

El metabolismo es aquel proceso por medio del cual el medicamento es llevado por el organismo hasta transformarlo en una sustancia hidrosoluble de fácil excreción renal. El metabolismo de los fármacos se lleva a cabo en el hígado principalmente. Los medicamentos pueden ser metabolizados por oxidación, reducción, hidrólisis, hidratación, conjugación, condensación o isomerización. Cualquiera de estas rutas requiere de la participación de enzimas que suelen ser abundantes en el hígado. Las enzimas responsables del metabolismo se encuentran en el retículo endoplásmico de los hepatocitos. Allí se encuentra el sistema enzimático más importante, el P450 que desempeña una función oxidasa mixta (Beltrán G. K, 1986)

La absorción es el proceso por medio del cual los medicamentos son dispuestos en los líquidos corporales para su distribución por el cuerpo del organismo animal. Para que exista absorción del medicamento, primero deben disolverse. En general, un medicamento debe atravesar varias barreras celulares semipermeables antes de alcanzar la circulación sistémica. Los procesos mediante los cuales los fármacos atraviesan las membranas plasmáticas van desde la difusión pasiva, la difusión pasiva facilitada, el transporte activo hasta el transporte mediante proteínas especializadas para ese fin (Flórez J, 1997).

Existen diferentes factores que intervienen en el proceso de absorción de los medicamentos tales como los siguientes:

Grado de concentración del medicamento. A mayor concentración del fármaco habrá mayor absorción del mismo. Aumento en la motilidad gástrica. Esta condición permite un vaciamiento rápido del estómago y

facilita que aquellos fármacos de acción entérica lleguen lo más rápido posible a su sitio de acción (Beltrán G. K, 1986; Flórez J, 1997).

Forma de presentación del medicamento. Las presentaciones o diluciones líquidas son absorbidas más rápidamente que aquellas que se representan en forma de cristales o sólidas.

Solubilidad en grasa. Los medicamentos solubles en grasa se absorben con mayor rapidez cuando se suministra por vía cutánea (Flórez J, 1997).

V. Técnicas de extracción de metabolitos de plantas medicinales

La extracción es un proceso para obtener los compuestos de interés de la materia prima. Antiguamente era difícil determinar la potencia de un extracto concentrado debido a las grandes variaciones de calidad de la materia prima provocada por las técnicas empleadas en el cultivo, recolección y fabricación de las mismas. Actualmente los extractos estandarizados permiten solventar este problema. La estandarización es la mejor manera de asegurar el efecto deseado de los principios activos del extracto obtenido ya sea de manera líquida o sólida (Gómez, 2006).

Las plantas biosintetizan y almacenan una importante variedad de sustancias químicas llamadas metabolitos primarios y secundarios de importancia en la farmacia. Para poder estudiarlos es necesario extraerlos del material vegetal. Los metabolitos primarios o secundarios, tienen diferentes e importantes funciones en los seres vivos ayudan en el desarrollo y funcionamiento del organismo. Para obtener los materiales producidos por las plantas se deben fragmentar las estructuras vegetales a emplear y pueden procesarse en fresco o en seco. En general, se utiliza material seco, excepto cuando el objetivo es la extracción de aceites volátiles en donde se prefiere utilizar la planta fresca (Gómez, 2006; catedrawww.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia).

Para extraer el principio activo de los metabolitos de plantas medicinales, se han empleado diversos métodos, entre los que figuran la extracción mecánica, la destilación y la extracción con disolventes. Los métodos de extracción implican el tratamiento del material vegetal con el disolvente adecuado, que solubilice dentro de lo posible únicamente el principio activo deseado (Cátedra 2013 www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/).

El estudio basado en una marcha fotoquímica consiste en efectuar una extracción (del material previamente colectado, secado y molido) que permita obtener la mayor parte de los constituyentes químicos (extracto total o crudo o bruto). Por ello se debe utilizar un solvente universal que solubilice (y cosolubilice) la mayoría de los compuestos, siendo los más utilizados metanol, agua y el etanol. (www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/, Cátedra, 2013).

En varios procesos industriales, como la producción de colorantes, la extracción u obtención de materias primas aromáticas, entre otros, se utilizan procesos de extracción sólido-líquidos y líquido-líquido. En estas

operaciones se utilizan grandes cantidades de disolventes orgánicos, que es necesario eliminar para obtener los extractos o los productos naturales en forma pura. Muchos de estos productos naturales son sensibles a las temperaturas altas y a la exposición a la luz. En estos casos es conveniente la eliminación de los disolventes utilizados en la extracción por evaporación a presiones reducidas (Quisbert F.N.E ,2006).El equipo ideal para este tipo de operación técnica, es el evaporador rotativo o rotavapor que permite eliminar, de forma rápida, los disolventes utilizados en los procesos de cromatografía.

La extracción de las sustancias está estrechamente relacionada con las propiedades de las mismas. Así, las oleorresinas son sustancias líquidas, viscosas o semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, balata, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavero, entre otros.), cuya principal característica es que poseen aroma y se obtienen de las plantas en forma concentrada. Los aceites esenciales son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como el ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados, generalmente se obtienen mezclas complejas de más de 100 componentes que pueden ser compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos grasos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. Estas sustancias pueden presentar cambios en sus composiciones al alcanzar temperaturas cercanas a los 100°C, tales como la hidrólisis de esterés, polimerización de aldehídos o descomposición de otros compuestos. Existen métodos de procesamiento en la industria alimenticia y cosmética para reducir metabolitos no deseables presentes en algunos aceites esenciales (Martínez, 2003).

Para la extracción del safrol u otros compuestos nocivos para la salud, se incluye el lavado y el calentamiento de la semilla a 70°C o (158°F) durante 30 minutos, 5 minutos de ebullición en agua destilada y secado al sol durante 48 horas, con este método se reduce hasta el 90% del contenido de safrol (Martínez, 2003; Márquez, 2011). El safrol presente en las hojas y tallos de la hoja santa, es extraído por el método de hidrodestilación asistida por la radiación de Microondas, su estructura química corresponde a un éter fenólico (Márquez, 2011).

En la medicina tradicional la forma de extracción de principios activos supone diferentes métodos utilizados por milenios. Para elaborar las preparaciones se deben utilizar recipientes de porcelana, vidrio o barro, para machacar desmenuzar o triturar el fármaco, se recomienda utilizar una piedra de moler o las manos limpias. Si se requiere filtrar algún líquido se debe usar papel filtro, algodón, lienzo, gasa o paño. No se recomienda utilizar instrumentos metálicos para filtrar, macerar o embazar fármacos naturales, ya que el metal puede propiciar cambios en las propiedades medicinales. La luz y el oxígeno alteran el sabor de las propiedades medicinales de las plantas, por tantos los productos obtenidos siempre deben de conservar herméticamente tapados en envases de vidrio o porcelana en lugares frescos, secos y protegidos

de la luz. Todas las preparaciones caseras de plantas medicinales deben de elaborarse en el momento de su uso (Fonnegra y Jiménez 2007).

Un ejemplo claro en la extracción de un principio activo en forma de aceite para uso externo, se machaca o tritura las partes de la planta, se deja macerar en aceite de olivas, de almendras o de girasol durante un periodo de 8 a 20 días. Luego se filtra con un lienzo o paño limpio. Se exprime el triturado y el aceite se conserva herméticamente tapado. El aceite también se puede preparar si se disuelve o se deja hervir durante 2 horas el triturado. Cuando el preparado es a partir de tintura, el envase de deja destapado 48 horas para que volatilice el alcohol (Figura. 4).

Entre las formas más comunes de preparación tradicional de las plantas medicinales se encuentran:

Agua ardiente. Este procedimiento consiste en machacar, triturar o desmenuzar las partes de la planta que son colocados en un recipiente adecuado al que se le agrega agua, en una proporción de 1 parte de droga por 16 partes de agua, se lleva a fuego lento hasta que se evapore la mitad del agua. Se retira del fuego se le añade agua ardiente de caña hasta obtener el volumen inicial, se tapa bien y se deja macerar durante 24 horas. Se cuela a través de cedazo, gasa, paño o lienzo y se exprime. El producto colado se filtra con papel filtro o a través de algodón. Se almacena herméticamente tapado (Figura. 4).

Cataplasma. La planta o partes de la planta se trituran en fresco y se mezcla con un poco de agua caliente. Este preparado se pone entre dos pedazos de tela fina o de gasa y se aplica sobre la zona afectada. Otra forma de preparar un cataplasma es triturar la planta, secarla y pulverizarla. Al polvo obtenido de la trituración se le agrega harina y agua fría para formar una pasta, que se coloca entre gasas en la zona afectada. El cataplasma se cambia una vez que se seca el triturado, además no se debe reutilizar, la cataplasma al aplicarse, debe de tener una temperatura máxima de 40°C de lo contrario pierde sus propiedades revulsivas y descongestionantes (Figura.4).

Compresa. A partir de las partes trituradas de la planta se hace una decocción, infusión o maceración en agua caliente o fría. El macerado se coloca entre gasas y se aplica sobre el área afectada. Se sujeta ligeramente con lana, paño o tela gruesa para evitar que se enfríe (Figura. 4).

Emplasto. Consiste en aplicar la planta fresca, triturada o machacada, directamente sobre la piel, también se puede aplicar en decocción. Se usa en casos continuos de contusión o hematomas. En todos los casos debe evitarse su uso sobre escoriaciones, heridas, supuraciones u otras afecciones abiertas. Siempre se aplica caliente (Figura.4)

Esencia o espíritu. La planta o partes de la planta machacada o triturada se macera en vino durante 15 días. Luego se cierne a través de un colador o lienzo, se exprime y el líquido obtenido se almacena herméticamente tapado (Figura. 4).

Infusión o té. Es el procedimiento más empleado y clásico de utilización de las drogas vegetales, generalmente se preparan con partes tiernas de las plantas, tales como hojas, flores y raíces ricas en aceites esenciales. En un recipiente se pone la cantidad necesaria de droga (hojas, flores, raíces, entre otros), es común emplear proporciones de 1 g de droga por mL de agua (Figura. 4) (Fonnegra y Jiménez 2007).



Figura 4. Diferentes formas de preparación tradicional y obtención de metabolitos de las plantas para uso medicinal (Tomado de Fonnegra y Jiménez, 2007).

VI .Inflamación

La inflamación es el nombre genérico que engloba a un grupo de reacciones en el tejido conjuntivo vascular como respuesta a una agresión endógena o exógena. En este proceso intervienen factores solubles y células. Las reacciones de un organismo ante moléculas, microorganismos o cuerpos extraños a él, constituyen la respuesta inmune (Martin A.D, 2005). Las células inmunitarias son las que se encargan de detectar las moléculas extrañas que pertenecen al elemento invasor. El sistema inmunitario puede responder a una gran variedad de antígenos extraños. Se estima que puede reconocer entre 10^9 y 10^{11} determinantes antigénicos distintos (Kumar *et al.*, 2003). Este sistema está formado por células y moléculas responsables de la inmunidad. Un tipo de respuesta inmunitaria es la reacción inflamatoria.

Cuando existe un daño a los tejidos corporales se activa una respuesta defensiva denominada inflamación que puede ser causada por infección microbiana, agentes físicos como el calor, luz, electricidad o agentes químicos como ácidos, bases y gases. La inflamación suele caracterizarse por cuatro signos y síntomas que son enrojecimiento, dolor, calor y tumefacción (figura 5). La pérdida de la función depende del sitio y la magnitud del daño (Kumar *et al.*, 2003).

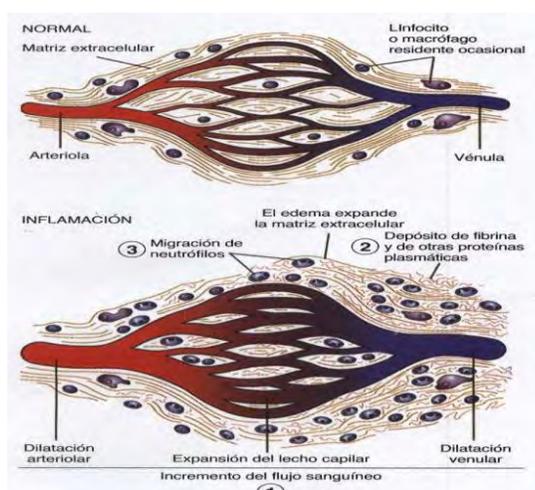


Figura 5. Representación del proceso de inflamación donde la característica principal es el aumento de grosor y cantidad de vasos sanguíneos (Tomado de Kumar *et al.*, 2003).

6.1 Funciones de la inflamación

La inflamación tiene como función la destrucción del agente nocivo y eliminarlo del cuerpo junto con sus derivados. Si la destrucción del agente patógeno no es posible, la inflamación representa la limitación de sus efectos sobre el cuerpo, ya sea porque encierra al factor provocante o a sus derivados. Otra función de la inflamación es reparar o remplazar el tejido dañado por el agente nocivo a sus derivados (Flórez, 1997).

Durante la inflamación hay una activación y un aumento de la concentración sanguínea de un grupo de proteínas. Algunas de estas proteínas se producen en el hígado; otras están presentes en la sangre en una forma inactiva y se convierten en una forma activa durante la inflamación (Goldsby *et al.*, 2004).

Los procesos de inflamación se dividen en 3 fases. La primera consiste en la vasodilatación y aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos. La segunda está relacionada con la migración de los fagocitos y fagocitosis y la tercera es la reparación del tejido.

En la vasodilatación se dilatan los capilares cercanos a la lesión, lo que implica un incremento en la permeabilidad capilar debido a la lesión de las paredes capilares y a sustancias químicas liberadas por los tejidos lesionados. La fagocitosis es un proceso que llevan a cabo los monocitos y los macrófagos, células que forman parte del sistema fagocítico mononuclear, estas células son capaces de ingresar a su interior elementos del medio inflamado. La médula ósea genera las células del sistema fagocítico mononuclear que maduran y adquieren características diferentes, tanto morfológicas como funcionales. Las células originadas de la médula ósea se conocen como monocitos, las cuales circulan y llegan a los tejidos donde se convierte en macrófagos (histiocito) (Kumar *et al.*, 2008).

6.2 Tipos de inflamación

La inflamación ha sido clasificada de acuerdo con el tiempo de duración de la reacción inflamatoria. Los términos empleados para calificar estas reacciones son aguda, subaguda y crónica (Golsby *et al.*, 2004).

La inflamación aguda es aquella que perdura en un periodo relativamente corto pero cuya respuesta inflamatoria es intensa. Un ejemplo de esta inflamación es forúnculo en la piel que causa el *Staphylococcus aureus*. La inflamación aguda es un mecanismo defensivo precoz, que tiene como función inmediata contener la infección, evitar su extensión a partir del foco inicial e inducir mediante señales las respuestas inmunitarias específicas posteriores. Las reacciones inflamatorias agudas pueden ser desencadenadas por varios estímulos, como las infecciones bacterianas, víricas, fúngicas y parasitarias. se encuentran entre las causas más comunes y medicamente importantes de inflamación; por los traumatismos contusos y penetrantes, y por agentes físicos y químicos como quemaduras, congelación, radiación o sustancias químicas. o congelación; radiación; algunas sustancias químicas ambientales) lesionan las células del huésped. Otro factor que causa inflamación aguda es la necrosis tisular de cualquier causa, incluida la isquemia (como en el infarto de miocardio), lesiones físicas y químicas. También causan inflamación aguda, la penetración de cuerpos extraños como astillas o suciedad (Kumar *et al.*, 2008).

En una inflamación aguda se presenta primero la expansión de los capilares para incrementar el flujo. Esta condición provoca el enrojecimiento del área afectada y hay liberación de calor. Después hay un aumento de la permeabilidad de la estructura micro vascular para permitir el tránsito de proteínas

plasmáticas y leucocitos hacia la circulación. Por último hay un reclutamiento de neutrófilos que actúan frente a la infección en el lugar de la lesión (Golsby *et al.*, 2004).

En la inflamación subaguda hay una disminución de los cambios vasculares y la exudación neutrofílica, asimismo hay un predominio de las células mononucleares. La duración del proceso subagudo va de unos cuantos días hasta una o dos semanas (Kumar *et al.*, 2008).

La inflamación crónica se presenta cuando el tejido lesionado no se restablece por completo, es decir, no se elimina el factor extraño que provocó la lesión, en estos casos la inflamación progresa hasta un estado de *inflamación crónica*. Esta se caracteriza por la presencia sostenida de linfocitos, monocitos y células plasmáticas. La progresión de acontecimientos hasta esta etapa puede ser la persistencia de material extraño vivo o muerto que moviliza las reacciones inmunitarias. Por ejemplo en la hepatitis viral, el virus que se reproduce puede persistir dentro del hígado. Se acumulan células plasmáticas y linfocitos en gran número que aportan defensas inmunológicas. Otro ejemplo lo constituye la respuesta a la infección crónica causada *Mycobacterium tuberculosis* que produce tuberculosis (Kumar *et al.*, 2008).

Durante la inflamación se presentan cambios rápidos en los vasos sanguíneos, aunque la velocidad de los cambios son variables y dependen de la naturaleza e intensidad del estímulo inflamatorio original. Después de una vasoconstricción transitoria, que dura unos segundos, se produce una vasodilatación arteriolar, lo que da lugar a un aumento localizado en el flujo de sangre y a una congestión de los lechos capilares en sentido posterior. Esta expansión vascular es la causa del enrojecimiento (eritema) y aumento del calor (figura 6). A medida que se desarrolla la estasis, los leucocitos, principalmente neutrófilos, comienzan a acumularse en la superficie del endotelio vascular proceso denominado marginación. Es la primera etapa en el viaje de los leucocitos a través de la pared vascular hacia el interior de la pared intersticial.

En la fase inicial de la inflamación, la vasodilatación arteriolar y el aumento del flujo sanguíneo llevan a un aumento de la presión hidrostática intravascular, lo que da lugar a formación de un líquido denominado trasudado, que es esencialmente un ultrafiltrado de plasma sanguíneo con determinadas proteínas. Sin embargo el fluido extravascular no inflamatorio o trasudación se ve pronto eclipsada por el aumento de la permeabilidad vascular que permite el paso del líquido rico en proteínas al espacio perivascular, lo cual reduce la presión osmótica intravascular y aumenta la presión osmótica del líquido intersticial. El resultado neto es la salida de iones contenidos en agua hacia los tejidos extravasculares, constituyendo así la formación de un edema (Kumar *et al.*, 2008).

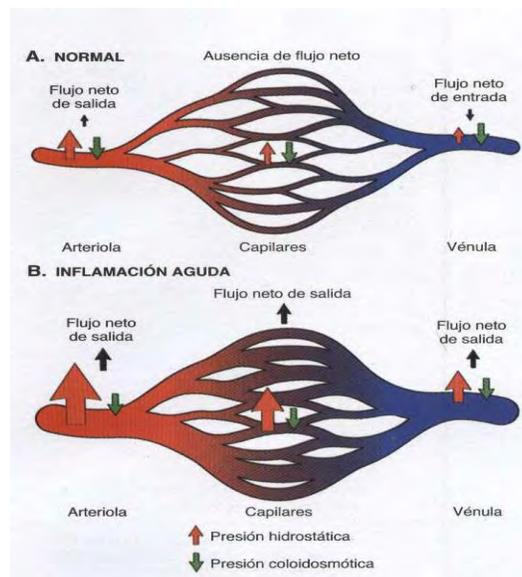


Figura 6. Representación del proceso de inflamación aguda donde se observa la diferencia en flujo y la presión de un tejido normal y uno afectado (Tomado de Kumar *et al.*, 2003).

6.3 Mediadores químicos del proceso de inflamación

La respuesta inflamatoria está controlada por moléculas de señalización conocidas como mediadores inflamatorios. Algunos de estos mediadores muestran efecto vasoactivo, otros median el dolor, la fiebre, la coagulación o la quimiotaxia leucocitaria. Los mediadores del proceso inflamatorio se originan del plasma o de las células. La producción de estos mediadores es desencadenada por microorganismos o moléculas señalizadores de daño. Entre los mediadores celulares se encuentran moléculas de histamina, serotonina, enzimas lisosomales, prostaglandinas, leucotrienos, factores activadores de plaquetas, especies activadas del oxígeno, óxido nítrico y citocinas. Los mediadores plasmáticos incluyen sistemas de cininas, sistema de la coagulación/fibrinólisis, anafilatoxinas y complejos de ataque de membrana (Alberts y Bray, 1996).

Las citocinas son mediadores producidas por muchos tipos celulares, presentan funciones múltiples, entre ellas inmunidad innata, inmunidad adaptativa, inflamación y hematopoyesis. Las quimiocinas son una superfamilia de polipéptidos pequeños, que en su mayor parte contienen 90 a 130 residuos de aminoácidos. Controlan en forma selectiva, y a menudo con especificidad, fenómenos como la adherencia, la quimiotaxis y la activación de muchos tipos de poblaciones y sus poblaciones de leucocitos. Algunas quimiocinas participan en procesos inflamatorios, otras se expresan de manera constitutiva. Estos mediadores provienen de tres fuentes principales, algunos son secretados por las células del hospedero como la histamina, las prostaglandinas, los leucotrienos, el factor activador de plaquetas, el óxido nítrico y las quimiocinas como la IL-8, RANTES, linfotactina, fractalquina y citocinas proinflamatorias como las IL-1, IL-6, TNF α , INF α , IFN α y IFN β , otros mediadores son productos intermedios del trauma tisular como la activación de las cascadas de coagulación y del complemento, y otros más son macromoléculas de origen microbiano como

los lipopolisacáridos, residuos de manosa, oligopéptidos y N-formilados (Alberts y Bray, 1996; Marroqui *et al.*, 2009).

Las citocinas ocasionan que los leucocitos se desplacen hacia diversos sitios tisulares al inducir su adherencia al endotelio vascular. Después de emigrar a los tejidos, los leucocitos se atraen hacia las grandes concentraciones de quimiocinas, lo que origina un reclutamiento dirigido de fagocitos y linfocitos efectores en los sitios inflamados. El ensamblaje de leucocitos en los sitios infectados, orquestando por las quimiocinas, es una parte esencial del montaje de una reacción guiada apropiadamente a un proceso infeccioso (Marroqui *et al.*, 2009).

Una molécula mediadora de la respuesta inflamatoria es el ácido araquidónico, el cual es un constituyente de la membrana celular. Es un ácido graso poliinsaturado de veinte carbonos, derivado del ácido linoleico. La activación del ácido araquidónico se lleva a cabo en la membrana celular por la acción de fosfolipasas, que son activadas cuando se detecta daño en la membrana celular, movimientos intracitoplasmáticos de calcio o porque en los receptores de la superficie de la célula se adhieren diversas sustancias liberadas durante el proceso inflamatorio como citosinas y péptidos quimiotácticos entre otras moléculas. Una vez activado el ácido, este puede seguir dos rutas metabólicas: la de lipooxigenasa que da lugar a los leucotrienos y la de las ciclooxigenasas (COX1, COX2) que forma tromboxanos, prostaglandinas y prostaciclina (Mendoza, 2009). Los metabolismos del ácido araquidónico tienen funciones importantes en el proceso inflamatorio como vasodilatación, aumento de la permeabilidad celular, coagulación, trombosis, dolor y su liberación produce efectos en diversos sistemas del organismo. Desde el punto de vista farmacológico, los derivados del ácido araquidónico son bloqueados por diversos antiinflamatorios.

VII. Metabolismo de fármacos en órganos principales

Cuando los fármacos ingresan al organismo sufren un conjunto de modificaciones químicas por la acción de diferentes enzimas. Las mayores concentraciones enzimáticas se encuentran en el hígado, intestino delgado y colón. La mayoría de los fármacos se absorben en el intestino en un proceso que combina enzimas gastrointestinales y hepáticas. El sistema más utilizado en el metabolismo de fármacos reside en los microsomas hepáticos que contienen una función oxidasa que depende de la citocromo P450. En general, las reacciones de biotransformación producen metabolitos inactivos más polares e hidrosolubles que facilitan su eliminación. Sin embargo, en algunos casos se generan metabolitos con mayor actividad biológica, más reactivos y en consecuencia con propiedades tóxicas (Alberts y Bray, 1996).

Las reacciones de biotransformación incluyen procesos de desalquilación, desaminación, desepoxidación, reducción de aldehído-cetona, deshidrogenación de alcohol, deshidrogenación de aldehído

e hidrólisis de esteres-amidas. En ocasiones los fármacos no son transformados o eliminados sino que son filtrados y reabsorbidos en los procesos renales. La biotransformación también se realiza en bazo, gónadas, epidermis y sangre (Alberts y Bray, 1996; Roos y Pawlina, 2007).

VIII. Antiinflamatorios

Los antiinflamatorios son fármacos que inhiben la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, los antiinflamatorios no esteroideos reducen la actividad sensibilizadora de las terminaciones sensitivas, así como la actividad vasodilatadora y quimiotáctica, interfiriendo de esta forma en uno de los mecanismos iniciales de la inflamación.

Los corticoesteroides que son derivados del colesterol incluyen prednisona, prednisolona y metilprednisolona. Estos agentes antiinflamatorios ejercen diversos efectos cuyo resultado es la reducción del número de linfocitos y la actividad de las células del sistema inmunológico. Los glucocorticoides, por lo general no interfieren en el desarrollo de la inmunidad adquirida en los seres humanos, ya que inhiben las reacciones de hipersensibilidad y el factor responsable de la migración de los macrófagos (Beltran, 1986; Mendoza, 2008).

Existen dos grupos de fármacos antiinflamatorios, los de naturaleza esteroide y los no esteroides. Los esteroides son corticoides producidos en la glándula adrenal, los no esteroides son inhibidores de la ciclooxigenasa producida por las prostaglandinas. La capacidad de los anti inflamatorios no esteroideos para reducir la inflamación es variable, en general, son más eficaces frente a inflamaciones agudas que crónicas, su acción depende del tipo de proceso inflamatorio y participación relativa de algunos eicosanoides.

Las acciones antiinflamatorias de los corticosteroides involucran moléculas de lipocortinas y de fosfolipasa A2 que a través de la inhibición del ácido araquidónico controlan la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos (Mendoza, 2008).

Los glucocorticoides como la hidrocortisona (fig. 7), también estimulan la lipocortina 1 al escapar al espacio extracelular, donde se une a los receptores de membrana de leucocitos e inhibe diversos eventos inflamatorios como la adhesión epitelial, la emigración, la quimiotaxis, la fagocitosis, el estallido respiratorio y la liberación de diversos mediadores inflamatorios entre las que se encuentran las citoquinas, enzimas lisosomales, el activador del plasminógeno tisular y las quimiocinas de los neutrófilos, macrófagos y mastocitos. Además, el sistema inmune es suprimido por los corticosteroides debido a una disminución en la función del sistema linfático, una reducción en las concentraciones de inmunoglobulinas y la precipitación de linfocitopenia, así como su función en la interferencia de la unión antígeno-anticuerpo (Wishart *et al.*, 2013).

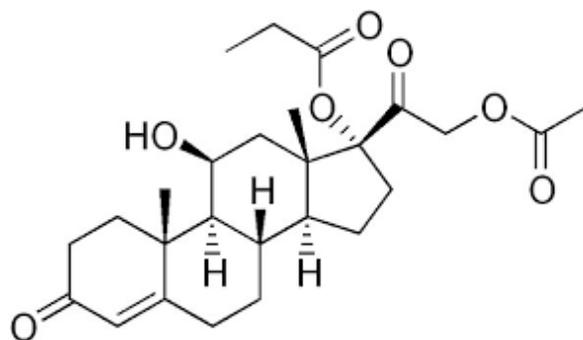


Figura 7. Molécula de hidrocortisona (Tomado de Wishart *et al.*, 2013)

La indometacina (fig. 8) es un antiinflamatorio no esteroide derivado del ácido indolacético. Este fármaco se introdujo en clínica en 1963 para el tratamiento de la artritis reumatoidea y procesos inflamatorios relacionados. Aunque su eficacia es muy notable, su asociación con una incidencia elevada de efectos secundarios intolerables, a veces irreversibles y potencialmente fatales, ha limitado su uso. 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.

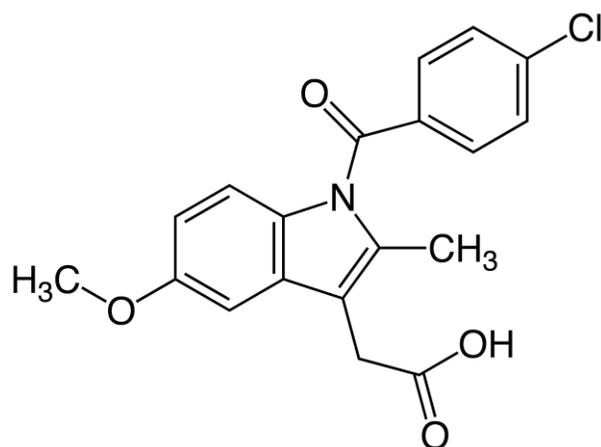


Figura 8. Molécula de indometacina (Tomada de Mendoza, 2008).

IX. Dosis efectiva, tóxica y letal

Cualquier sustancia endógena o exógena (xenobiótico) puede actuar como tóxico, es decir que puede producir efectos nocivos en el organismo. La toxicidad de una sustancia determinada está relacionada con la condición del sujeto, dosis y el ambiente. Para conocer el efecto de fármaco se requiere conocer el umbral de referencia que es la cantidad mínima requerida para que se produzca un efecto en el organismo, así como la máxima concentración del compuesto que no produce efectos adversos. El conocimiento de la toxicidad de las sustancias se logra a través de ensayos experimentales con animales.

La dosis es la cantidad total de una sustancia a la cual el organismo es expuesto. La dosis efectiva (ED) es la cantidad mínima capaz de producir el efecto deseado del fármaco. La dosis tóxica (TD) es la cantidad de fármaco que produce algún efecto dañino, en cambio, la dosis letal (LD) es la cantidad de medicamento que produce la muerte (figura. 9). Un concepto que suele emplearse es el índice terapéutico, empleado por primera vez por Pablo Ehrlich en 1913, que se define como la relación de la dosis requerida para producir un efecto tóxico y la dosis necesaria para producir la respuesta terapéutica deseada (Klausen, 2008).

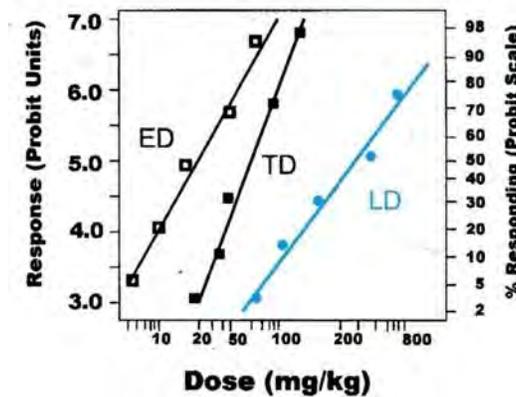


Figura. 9 Muestra la dosis ED o dosis efectiva, TD dosis toxica y LD dosis letal usados común mente en estudios farmacológicos tomado de (Klausen, 2008)

X. Hipótesis Y Objetivos

Hipótesis

Al administrar un extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* en diferentes concentraciones en el proceso inflamatorio inducido en ratones macho cepa CD 1, se inhibirá o disminuirá, la inflamación y se comprobará el efecto antiinflamatorio referido por la población mexicana.

Objetivo General

-Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* en ratones macho cepa CD 1 en dos modelos de inflamación, uno crónico y otro agudo.

Objetivos particulares

-Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* en dos modelos de inflamación crónico y agudo contrastado con dos anti inflamatorios de uso comercial indometacina e hidrocortisona.

-Evaluar un posible daño del extracto acuoso de *Piper auritum* en órganos como hígado, corazón, bazo y riñones.

-Determinar las concentraciones de los marcadores de inflamación ceruloplasmina y óxido nítrico.

XI .Metodología

11.1 Obtención del extracto acuoso de *Piper auritum Kunth*

Las hojas de *Piper auritum* fueron obtenidas de un invernadero de la localidad Dos Ríos, ubicada en el municipio de Huixquilucan, Estado de México. La determinación taxonómica del ejemplar se realizó en el herbario FEZA-UNAM de la FES Zaragoza. El ejemplar herborizado tiene el registro 15616 (Figura 25).

Se recolectaron hojas de varios ejemplares que fueron lavadas con agua corriente y se pesaron 200 gramos. Las hojas se maceraron en una licuadora con 500 mL de agua destilada (Figura. 26). El macerado se depositó en un matraz Erlenmeyer de 1L forrado con papel aluminio para protegerlo de la luz a fin de evitar descomposición de los componentes del extracto. El macerado permaneció en el matraz durante dos días a temperatura ambiente. Se procedió a filtrar el macerado con la ayuda de una gasa y un embudo buchner al vacío. Se realizó una segunda filtración con papel filtro cualitativo Whatman No. 1.

El extracto obtenido de las filtraciones se colocó en un matraz de rotavapor de 1 L, que previamente se pesó en una balanza granataria. Se procedió a la concentración del extracto a una temperatura de 60 °C y 160 rpm revoluciones por minuto con presión reducida. El extracto se concentró por un periodo de dos días guardando el extracto en el mismo matraz a una temperatura ambiente cubierto con aluminio y gasa estéril así al obtener una consistencia semisólida que fue secado en una estufa a 37.1°C cubriendo el matraz con papel aluminio para evitar el contacto con la luz y la boca del matraz se cubrió con una gasa estéril durante un periodo de tres días, se comprobó con una espátula limpia que el extracto no presentara solvente y que su consistencia fuera sólida. Se pesó el matraz con el extracto en su interior en la misma balanza granataria con el fin de saber el porcentaje de rendimiento obtenido. Las paredes del matraz fueron raspadas con una espátula para desprender la mayor cantidad de extracto sólido. El extracto fue colocado en un mortero con pistilo, para ser molido y convertido en un polvo fino (Figura 27).

El extracto hecho polvo fue colocado en un frasco ámbar lavado con alcohol al 70% secado y debidamente etiquetado con el nombre del extracto, especie vegetal y fecha de producción. El frasco con el polvo se colocó en un refrigerador a una temperatura constante de 3°C.

11.2 Ensayo crónico

Para los ensayos crónicos y agudo se emplearon ratones macho cepa CD 1 que fueron tratados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana Zoológica de 1999 (NOM-062-ZOO-1999), en relación con el cuidado y sacrificio de los animales en el laboratorio (Figura 30). La administración del pellet se hizo siguiendo el procedimiento desarrollado por (Marroquín *et al.* (2013).

Se prepararon 30 pellets de algodón de 10 mg, cuyo peso fue ratificado en una balanza analítica. Los pellets se esterilizaron en autoclave a 2 atmosferas de presión y 120°C.

Se pesaron y marcaron 30 ratones machos de la cepa CD 1 previamente aclimatados un día antes del inicio del estudio a las condiciones de temperatura y estrés después de ser transportados del bioterio de la FES Zaragoza a la UMIES (cuadro 7), se dividieron en cinco grupos de estudio de seis individuos cada grupo a cada ratón se le implantó un pellet subcutáneo en la zona escapular con la ayuda de un bisturí y de una sonda estéril de acuerdo al procedimiento de (Marroquín *et al.*, 2011)(Figura.28 y cuadro 7). Después de la implantación del pellet a los 30 ratones se procedió a la administraron de volúmenes constantes del grupo testigo solución salina 10 mL/Kg ,antiinflamatorio comercial hidrocortisona 15 mg/ kg y extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* de concentraciones 20, 40 y 80 mg/Kg en el rango de la dosis efectiva en base al peso (cuadro 7) , por medio de una sonda gástrica (Figura 29), la administración de las sustancias se realizó diariamente a la misma hora en la que fueron administrados la primera vez durante 10 días manteniendo aislados a los ratones en cajas de policarbonato con agua y alimento disponible durante todo el ensayo (Figura 30), la preparación de las dosis correspondientes del extracto acuoso de *piper auritum Kunth* e antiinflamatorio de uso comercial hidrocortisona de realizo cada 3 día del ensayo tomando siempre del extracto principal en polvo guardado a 3°C cuyos cálculos fueron realizados por concentración de diluciones (anexo XVI.).

Al onceavo día, todos los ratones fueron pesados y anestesiados en una cámara con éter (Figura 31), al momento se procedió a realizar una incisión del plexo axilar con la ayuda de un bisturí estéril y usando la presión arterial del ratón, se colecto aproximadamente 1 a 2 ml de sangre en tubos ependorff foliados del 1 al 30 asignando cada tratamiento un numero o secuencia para el estudio, después de obtener la sangre se procedió al sacrificio por dislocación posteriormente se separó el suero dejando coagular la sangre a temperatura ambiente y centrifugando a 10000 rpm (revoluciones por minuto) para cada tratamiento por ratón extrayendo una micropipeta alrededor de 400µL de suero colocando el suero en otros tubos foliados dichos tubos se congelaron a -20°C para su posterior análisis. Al terminar de extraer la sangre y con los efectos de la anestesia, se procedió a sacrificar a los ratones por la técnica de dislocación. Se realizó una disección de cada uno de los individuos (figura 32) donde fue retirando el pellet de algodón y pesado en una balanza analítica y colocada en una placa de ELISA estéril dejándose por 5 días en una estufa a una temperatura de 37.1°C (Figura 34), también cada ratón se le retiró cuidadosamente con pinzas, el hígado, el corazón, el riñón y el bazo. Los órganos se colocaron en cajas petri que fueron pesados inmediatamente en una balanza analítica. Cada caja Petri fue etiquetada de acuerdo a los tratamientos recibidos y posteriormente se calculó el coeficiente de relación de peso órgano animal (figura.33).

11.2.1. Determinación de ceruloplasmina

Se pesó 0.2 g de agarosa que fue vertida en un matraz Erlenmeyer de 50 mL con 20 mL de (fosfato dibásico de sodio) PBS. La agarosa contenida en el matraz fue solubilizada en un horno de microondas mediante tres ciclos de 10 segundos.

En un baño María a una temperatura de incubación de 45°C se colocaron 6 tubos de ensaye de 6 x 100, en los que se colocaron 3 mL de la solución de agarosa. A los tubos incubados con agarosa también se les agregó 150 µL de suero anticeruloplasmina de ratón obtenido de un conejo dejándose incubar por 5 minutos. Cada tubo fue agitado vigorosamente con un vortex y su contenido fue colocado en una placa con 6 pozos de 35 mm, misma que se cubrió y espero hasta que gelificara a temperatura ambiente por 5 minutos. En cada pozo se instrumentó de perforación 4 agujeros siguiendo el patrón de la distribución de los números de un reloj, es decir, a las 12, 3, 6 y 9. Cada uno de los pozos hechos en las dos placas fue etiquetado con el número de análisis de cada uno de los individuos estudiados a cada pozo se le agregó 5 µL de suero de ratón de cada grupo tratado siguiéndola secuencia asignada. Las dos placas fueron colocadas por 48 hrs en refrigeración.

Se procedió a realizar las mediciones del diámetro del halo con un vernier al sol observando si había formación de los halos de precipitación de la reacción de las proteínas de ceruloplasmina y el antígeno posteriormente se estableció un estándar de medición de los halos en base a la concentración de proteína ceruoplasmina presente en suero.

11.2.2. Determinación de nitritos por el método de Griess' s

Para esta técnica se procedió primeramente al plateado de cadmio, se emplearon 30 tubos de ensaye de 13 x 100 enumerados consecutivamente de acuerdo a los distintos tratamientos (solución salina, hidrocortisona 10 mg/Kg y las dosis administradas de extracto de *Piper auritum* de 20, 40 y 80 mg /kg.), aplicados a los ratones. A cada tubo se les agregó 0.5 g de cadmio metálico mismo que se lavó con solución de HCl 0.1 N. Posteriormente a cada tubo se le agrego 2 mL de solución de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 5% p/v. Los tubos se pusieron en agitación por 10 minutos en un rocker. Se eliminó el sobrenadante de cada tubo y se hicieron tres lavados con agua destilada, desechando el sobrenadante para eliminar el cobre. Nuevamente se procedió a lavar con HCl 0.1 N y a centrifugar a 3500 rpm durante 5 minutos quitando todo el sobrenadante.

Se observó que el cadmio al fondo de cada tubo presentara en su superficie un brillo plateado. Se adicionó NH_4Cl al 5% p/v con pH 9.

Número de tubo	Solución de NaNO ₃ Calibración µL	Agua destilada µL	Concentración µg/MI
1	0	900	0
2	100	800	0.20
3	200	700	0.40
4	300	600	0.60
5	400	500	0.80
6	500	400	1.0

Cuadro 3. Diluciones de NaNO₃ , agua y concentración de NaNO₃ para la curva de calibración

Curva de calibración

Se preparó una solución de NaNO₃ de concentración 2µg/mL. Para esta solución se pesó 0.02g de nitrato de sodio (NaNO₃) en una balanza analítica, el cual se aforo en un matraz 100 mL con agua destilada. Se agitó vigorosamente en un vortex. Esta solución denominada A o base tuvo una concentración de 200µg/mL. En el (cuadro 3 y Figura 31) , se muestra la relación de las diluciones de NaNO₃, agua destilada y las concentraciones de NaNO₃ por mL.

Se tomó una alícuota de 100µl de la solución A con la ayuda de una micropipeta con punta estéril de rango de 10 a 100µl. La alícuota de la solución A se colocó en otro matraz aforado del mismo volumen, tratando de no tocar las paredes del matraz, posteriormente se aforó con agua destilada y se agitó vigorosamente, dicha solución se le nombró solución B o de calibración con concentración de 100 µg/mL.

En 6 tubos (cuadro 3 y Figura) de ensayo estériles de 13 x 100 enumerados, y con ayuda de un micropipeta de 100 a 1000µL se tomo para cada tubo de la solución B de calibración junto con un volumen de agua destilada en base a la siguiente proporción de nuestra curva de calibración establecida en la figura al igual para el tratamiento de las 30 muestras de suero de ratón.

11.2.3. Determinación de NO₂ en suero de ratón

Las 30 muestras de suero mantenidas a una temperatura de -20°C y enumeradas de acuerdo al tratamiento ensayado, fueron colocadas en una gradilla de tubos ependorff a temperatura ambiente durante un lapso de 30 minutos para su descongelamiento. Se dispuso de otros 30 tubos ependorff estériles que fueron etiquetados consecutivamente de acuerdo a los tratamintos ensayados y en concordancia con las muestras contenidas en los 30 tubos congelados. Los tubos que contenían las muestras de suero fueron agitadas vigorosamente y con ayuda de una micropipeta, se tomaron 100 µL de suero concentrado de cada una de las muestras que posteriormente fue colocada en los nuevos tubos foliados, a los cuales se les adiciono 300 µL de agua destilada. Se agitaron y se les adicionó 20 µL de ZnSO₄, y centrifugaron a 10000 rpm durante 5

minutos. Pasando este tiempo se tomaron los tubos con cadmio plateado a los cuales se les desecho el sobrenadante de solución NH_4Cl , y se le agregó el sobrenadante dejando al fondo el pellet que se formó en cada uno de los tubos con suero diluido.

Los tubos que contenían el suero y el cadmio plateado fueron colocados en un rocker por 15 minutos, después fueron centrifugados a 3500 rpm durante 5 minutos. De cada tubo se recogió 200 μL de sobrenadante de que fue colocado en nuevos tubos de ensayo, estériles, de 13 x 100, enumerados conforme al tratamiento correspondiente, a estos mismos tubos se les adicionó 700 μL de agua destilada con 50 μL de sulfanamida y 50 μL de reactivo de NED (N-(1-naftil)-etilendiamina), se dejaron incubar por 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente las muestras fueron leídas en celdas de plástico en un espectrofotómetro JENWAY 6305 uv/vis a 540 nm.

11.3 Ensayo agudo

Se emplearon 30 ratones machos cepa CD1 con un peso promedio de 40 g, divididos en cinco grupos que correspondieron a los cinco tratamientos (solución salina, indometacina 10 mg/kg, extracto de *Piper auritum* de 20, 40 y 80 mg /kg). Cada grupo constó de 6 individuos de estudio que fueron marcados y aclimatados por un periodo de 24hrs. Después de dicho periodo, se les privó de alimento durante 16 hrs, con acceso libre al agua.

El día del ensayo, se midió el grosor de la pata izquierda con la ayuda de un micrómetro registrando el grosor inicial en mm (Figura 36). Después se inyectaron con la ayuda de una jeringa de insulina 50 μL de carragenina al 1% p/v para provocar una inflamación aguda en el cojinete plantar de la pata izquierda trasera (Figura 35). Inmediatamente después de la inoculación de la carragenina, cada uno de los ratones de los cinco grupos fue administrado con la ayuda de una sonda gástrica (Figura 29), con el tratamiento correspondiente a su grupo. Así, en el grupo A, se le inyectó solución salina, en el grupo B, Indometacina 10mg/kg, en el C, extracto de *Piper auritum* 20 mg /kg, en el grupo D, 40 mg /kg y en el grupo E, 80 mg /kg. Después de la administración de los tratamientos, se midió el grosor del cojinete plantar de la pata izquierda trasera. Las mediciones se hicieron en periodos de 1, 2, 3, 4 y 5 horas con el uso de un cronometro se fueron ajustando los tiempos para poder así administrar a 1 hora exacta después al medir el cojinete plantar (Figura 36) registrando en una bitácora el grosor en mm del cojinete plantar. Al terminar el ensayo, los 30 individuos fueron sacrificados en cámara de éter procurando el menor sufrimiento del animal.

Los datos obtenidos de los ensayos crónico y agudo fueron capturados en una base de datos en Microsoft Excel 2007 y analizados con el programa estadístico SPSS de IBM versión 10.5 donde se obtuvo la media, desviación estándar, margen de error y significancias. Las gráficas de los datos se realizaron con el programa SIGMA PLOT versión 12.0 para Windows xp.

XII. Resultados

12.1 Extracto acuoso de hoja santa *Piper auritum* Kunth

La cantidad de extracto acuoso en crudo que se obtuvo a partir de 200g de hoja fresca *Piper auritum* Kunth por el método de destilación al vacío un rendimiento de 1.98% peso del matraz antes de colocar el extracto 72.2g, peso del matraz con el extracto seco 76.16g cantidad de extracto obtenido 3.96g.

12.2 Ensayo crónico

Determinación de ceruloplasmina

En la figura 10 se muestran los resultados obtenidos de la concentración de ceruloplasmina en cada uno de los tratamientos ensayados. Ninguno de los 5 grupos experimentales tratados con mostró diferencias significativas $*p < 0.05$ respecto a la concentración en mg/dL de ceruloplasmina proteína de fase aguda, en plasma sanguíneo obtenida de ratones machos adultos cepa CD 1 en ensayo crónico.

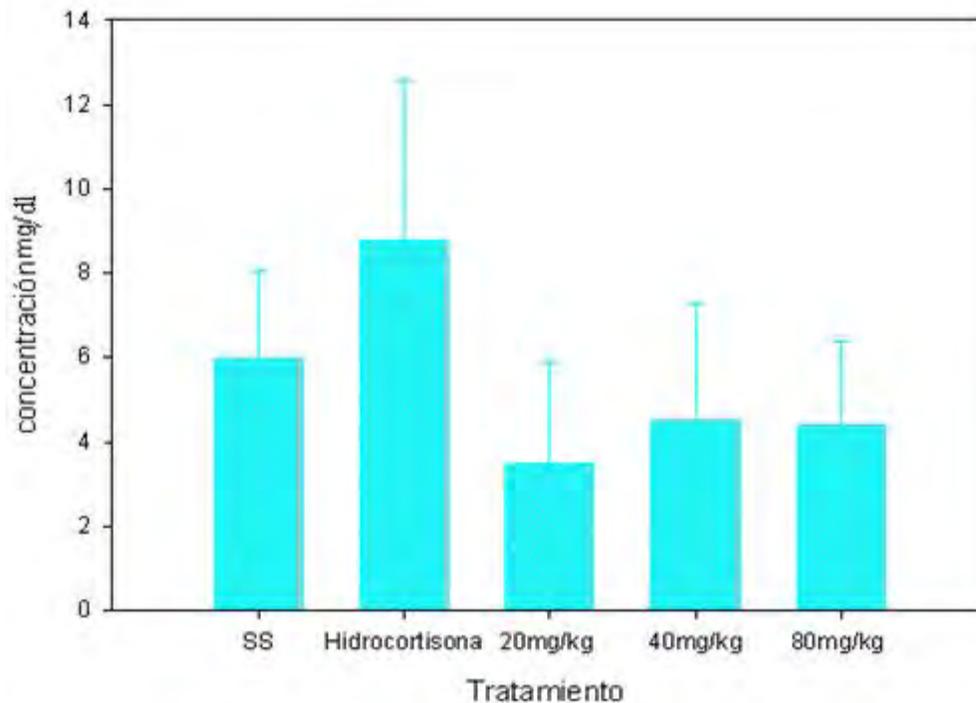


Figura 10. Concentración de ceruloplasmina en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona, 20 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Índice hepático

En la figura 11 se muestran los valores del peso del hígado en g, obtenido en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados no existen diferencias significativas *P<.258

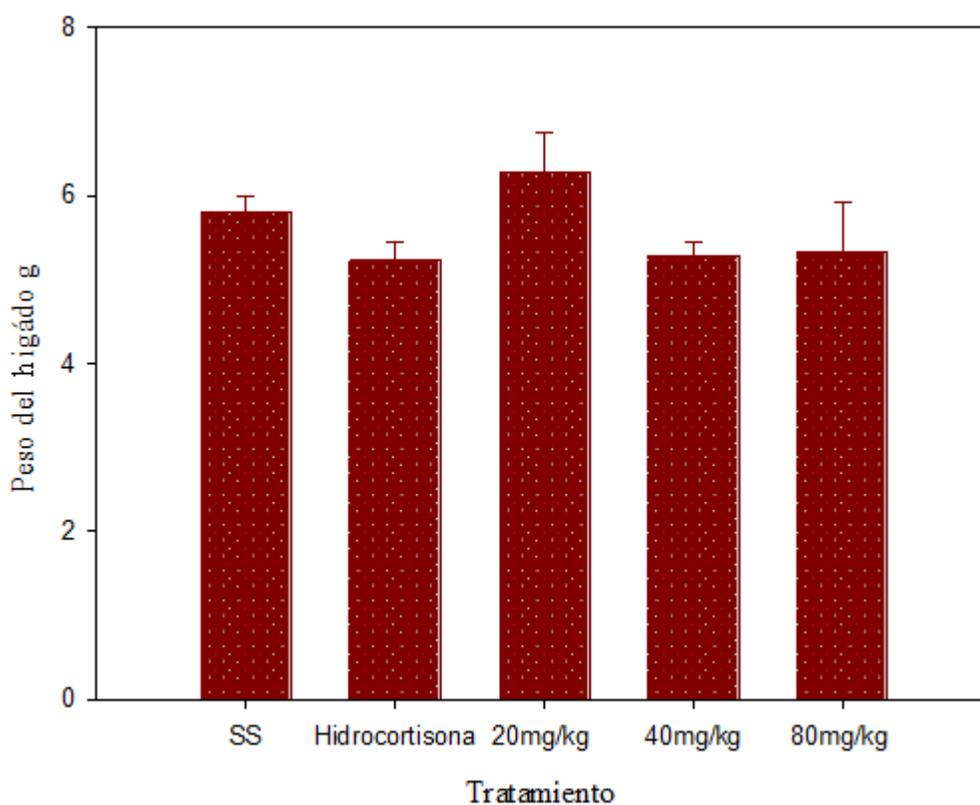


Figura 11. Índice hepático obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona 15mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Índice esplénico

En la figura 12 se observan los valores obtenidos del peso del bazo en g., obtenido en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. A pesar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado con el antiinflamatorio hidrocortisona que fue mayor en relación con los demás tratamientos ensayados no mostro diferencia estadísticamente significativa alguna * $p < .152$

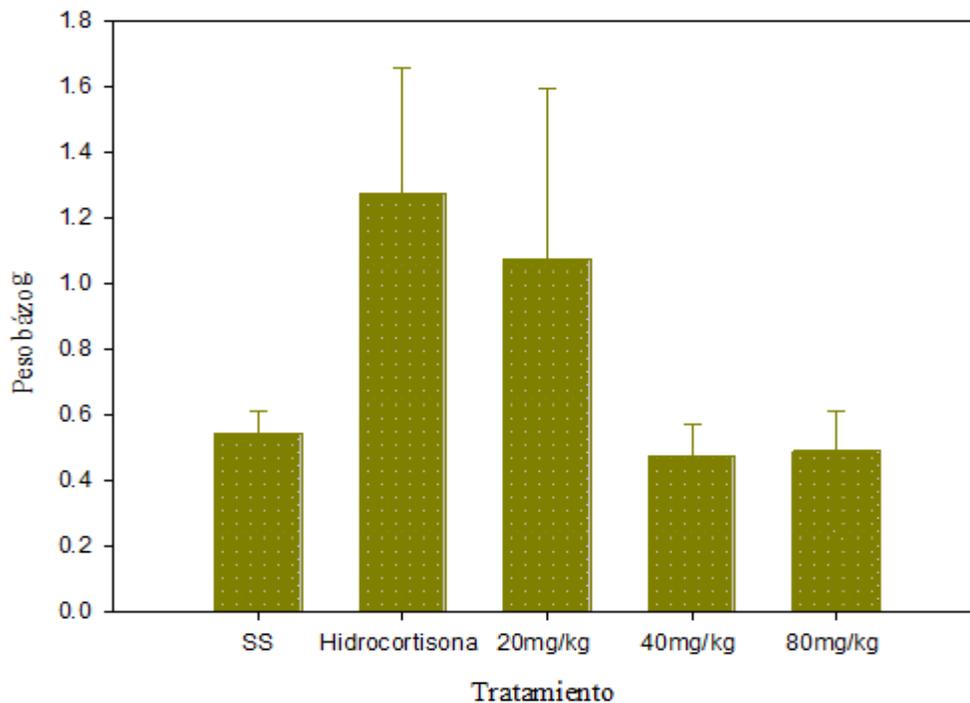


Figura 12. Índice esplénico obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona 15 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Índice cardiaco

En la figura 13 se observan los valores obtenidos del peso del corazón en g, obtenido en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. No hubo donde diferencias significativas entre los tratamientos *P<.859.

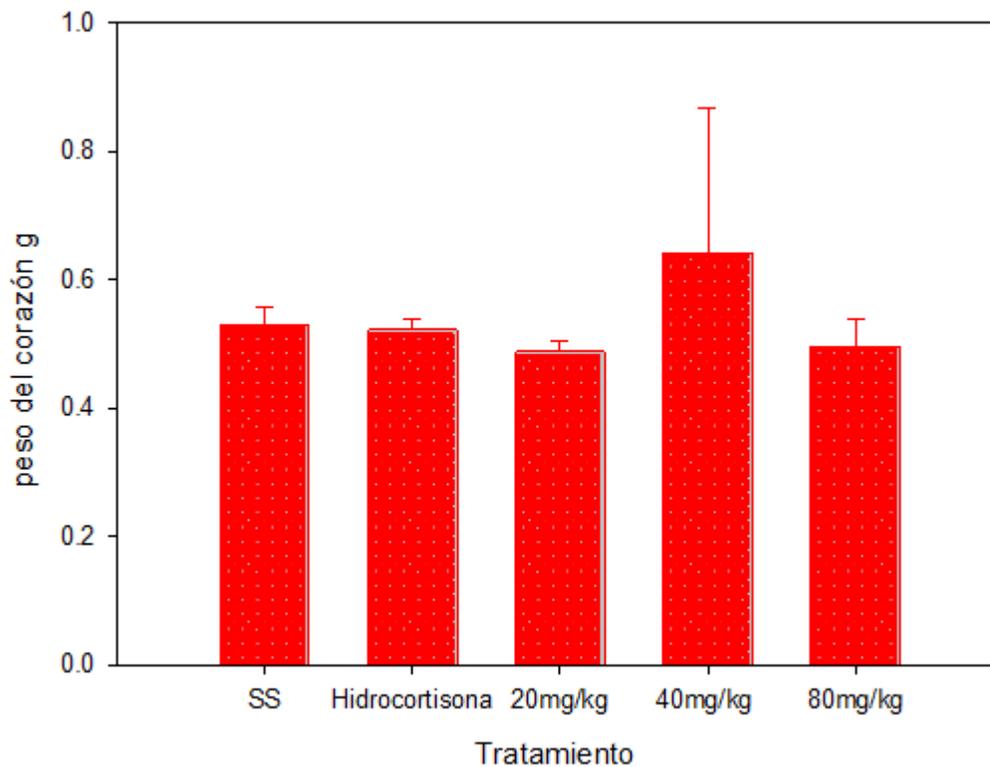


Figura 13. Índice cardiaco obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidroclortisona 15 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Índice renal

En la figura 14 se observan los valores obtenidos del peso de los riñones en g obtenidos en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos *P<.824.

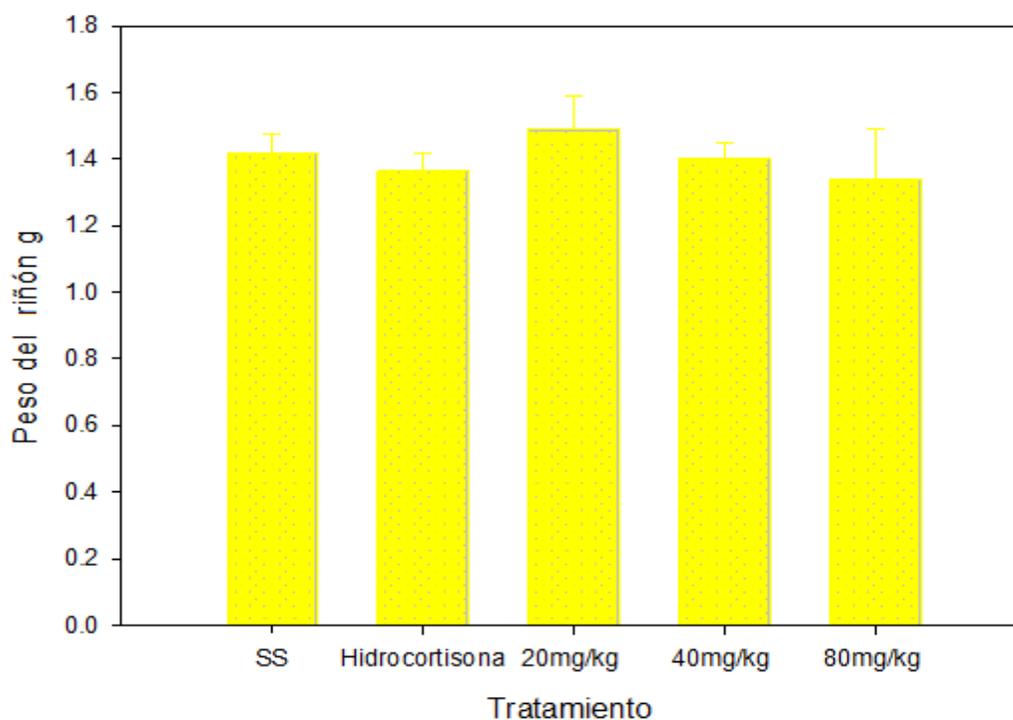


Figura 14. Índice renal obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona, 15 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Concentración de nitritos

En la figura 15 se observan los valores obtenidos de nitritos en plasma, cuantificados en mg/dl en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos *P<681.

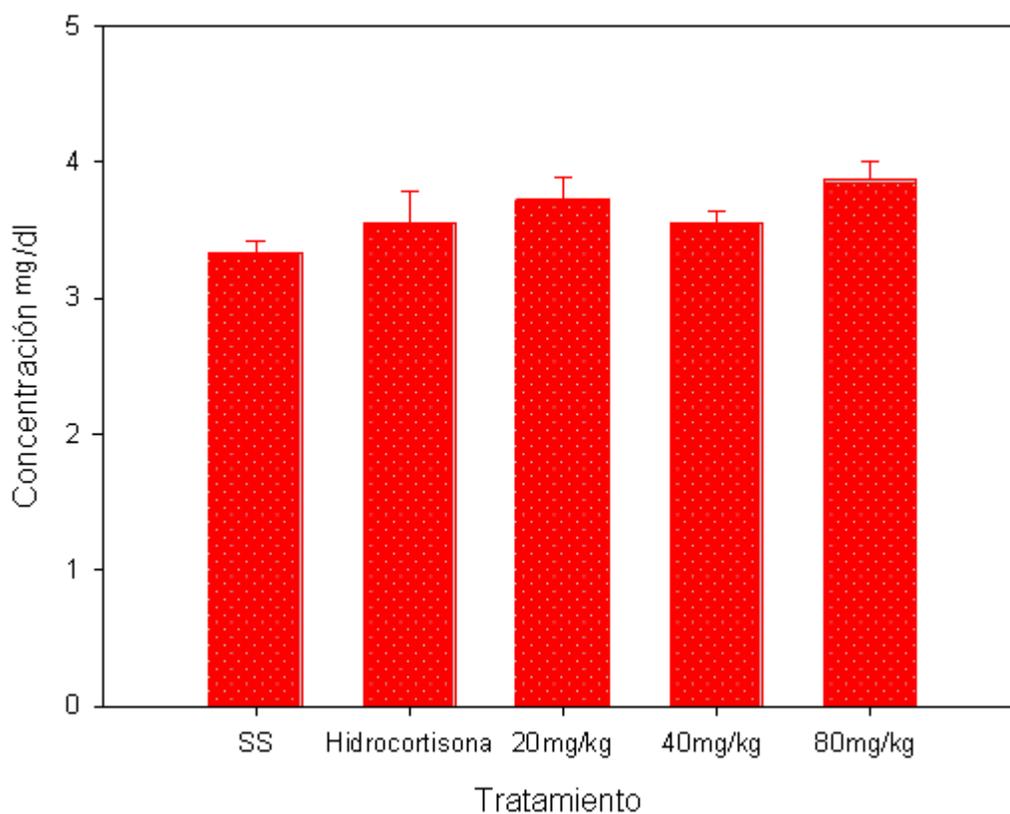


Figura 15. Concentración de nitritos obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona, 15 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Descriptivos

grupos y tratamientos inflamación crónica	N Individuos	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
bazo								
SS(solución salina)	6	.543531	.1610861	.0657631	.374482	.712581	.3915	.8445
Hidrocortisona 15mg/Kg	6	1.272622	.9398325	.3836850	.286328	2.258916	.2639	2.1990
20mg/Kg piper auritum	5	1.073794	1.1603806	.5189380	-.367009	2.514597	.4389	3.1404
40mg/kg piper auritum	6	.472827	.2328644	.0950665	.228450	.717203	.2181	.8750
80mg/kg piper auritum	6	.489684	.2958394	.1207759	.179220	.800149	.2079	1.0221
Total	29	.760033	.7051911	.1309507	.491793	1.028273	.2079	3.1404
hígado								
SS(solución salina)	6	5.812637	.4355457	.1778108	5.355560	6.269714	5.2840	6.4652
Hidrocortisona 15mg/Kg	6	5.235987	.5398134	.2203779	4.669488	5.802487	4.6483	6.2274
20mg/kg piper auritum	5	6.278161	1.0529006	.4708715	4.970812	7.585510	5.1903	8.0282
40mg/kg piper auritum	6	5.292643	.3963823	.1618224	4.876666	5.708621	4.8663	5.9241
80mg/kg piper auritum	6	5.337603	1.4575250	.5950321	3.808024	6.867182	3.3619	7.8350
Total	29	5.567725	.8976741	.1666939	5.226268	5.909182	3.3619	8.0282
riñón								
SS SS(solución salina)	6	1.415516	.1436189	.0586322	1.264798	1.566235	1.2411	1.5831
Hidrocortisona	6	1.363809	.1313888	.0536392	1.225924	1.501693	1.2258	1.5684
20mg/kg piper auritum	5	1.490706	.2252791	.1007479	1.210985	1.770427	1.2138	1.8400
40mg/kg piper auritum	6	1.403746	.1116958	.0455996	1.286528	1.520963	1.2563	1.5789
80mg/kg piper auritum	6	1.339904	.3746043	.1529316	.946781	1.733027	.9160	1.9776
Total	29	1.399703	.2094775	.0388990	1.320022	1.479384	.9160	1.9776
corazón								
SS SS(solución salina)	6	.529537	.0663735	.0270969	.459882	.599192	.4373	.6215
Hidrocortisona 15mg/Kg	6	.522089	.0421959	.0172264	.477807	.566370	.4639	.5726
20mg/kg piper auritum	5	.488372	.0357380	.0159825	.443997	.532746	.4453	.5311
40mg/kg piper auritum	6	.641080	.5563805	.2271414	.057194	1.224965	.3628	1.7740
80mg/kg piper auritum	6	.496962	.0992978	.0405382	.392755	.601169	.3451	.6118
Total	29	.537237	.2479372	.0460408	.442926	.631547	.3451	1.7740
ceruloplasmina								
SS SS(solución salina)	6	3.3300	.22045	.09000	3.0986	3.5614	2.97	3.51
Hidrocortisona 15mg/Kg	6	3.5550	.57698	.23555	2.9495	4.1605	2.70	4.32
20mg/kg piper auritum	5	3.7260	.35204	.15744	3.2889	4.1631	3.24	4.05
40mg/kg piper auritum	6	3.5550	.20325	.08298	3.3417	3.7683	3.24	3.78
80mg/kg piper auritum	6	3.8700	.32699	.13349	3.5268	4.2132	3.24	4.05
Total	29	3.6031	.38371	.07125	3.4571	3.7491	2.70	4.32
nitritos								
SS	6	5.9650	5.06785	2.06894	.6466	11.2834	1.52	15.23
Hidrocortisona 15mg/Kg	6	8.7568	9.30547	3.79894	-1.0087	18.5223	.76	26.66
20mg/kg piper auritum	5	3.4802	5.32248	2.38029	-3.1285	10.0889	.38	12.95
40mg/kg piper auritum	6	4.5068	6.82443	2.78606	-2.6550	11.6686	.00	16.00
80mg/kg piper auritum	6	4.3700	4.87676	1.99093	-.7478	9.4878	.38	12.90
Total	29	5.4825	6.33971	1.17726	3.0710	7.8940	.00	26.66

Cuadro 4 .Datos estadísticos obtenidos de SPSS IBM de las respecto a los tratamientos correspondiente a concentración ceruloplasmina nitritos ,índice, esplénico, hepático y cardiaco figuras 10,11,12,13,14 y15 muestra el número de individuos en el estudio, media y desviación estándar

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Bazo	Inter-grupos	3.283	4	.821	1.851	.152
	Intra-grupos	10.641	24	.443		
	Total	13.924	28			
Hígado	Inter-grupos	4.316	4	1.079	1.419	.258
	Intra-grupos	18.247	24	.760		
	Total	22.563	28			
Riñón	Inter-grupos	.072	4	.018	.375	.824
	Intra-grupos	1.156	24	.048		
	Total	1.229	28			
Corazón	Inter-grupos	.088	4	.022	.324	.859
	Intra-grupos	1.633	24	.068		
	Total	1.721	28			
ceruloplasmina	Inter-grupos	.978	4	.245	1.867	.149
	Intra-grupos	3.144	24	.131		
	Total	4.123	28			
Nitritos	Inter-grupos	98.908	4	24.727	.578	.681
	Intra-grupos	1026.467	24	42.769		
	Total	1125.375	28			

Cuadro 5 .Datos estadísticos obtenidos de SPSS IBM de las respecto a los tratamientos correspondientes a concentración ceruloplasmina nitritos, índice, esplénico, hepático y cardíaco figuras 10,11,12,13,14 y15 no mostraron diferencias significativas

Peso del pellet húmedo

En la figura 16 se observan los valores obtenidos en mg, de los pellets húmedos en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos *P<.989.

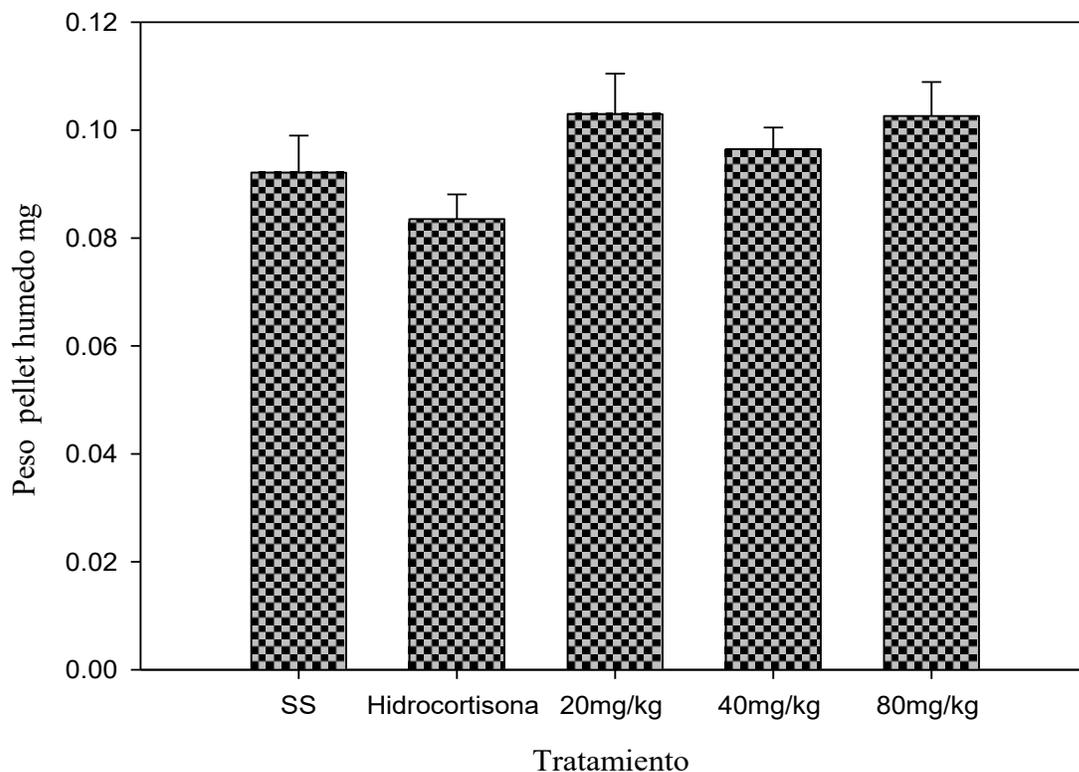


Figura 16. Peso de los pellets húmedos en mg, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona, 15 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Peso del pellet seco

En la figura 17 se observan los valores obtenidos en mg, de los pellets secos en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos *P<.148.

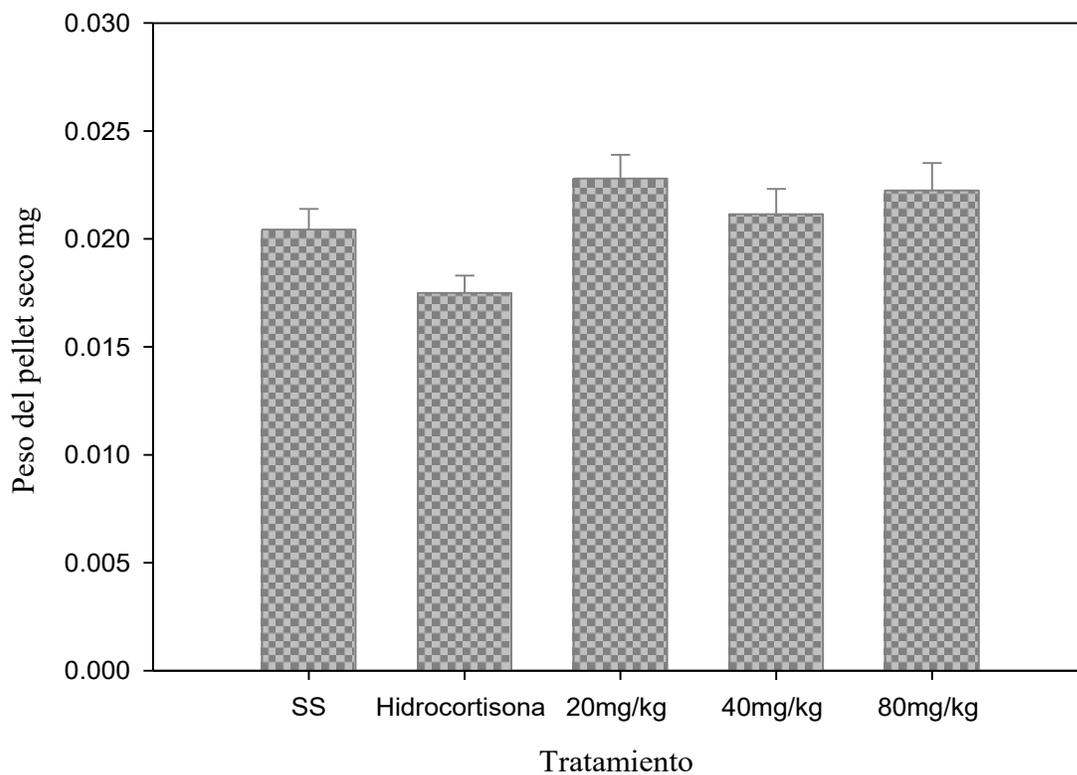


Figura 17. Peso de los pellets secos en mg, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, hidrocortisona, 20 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

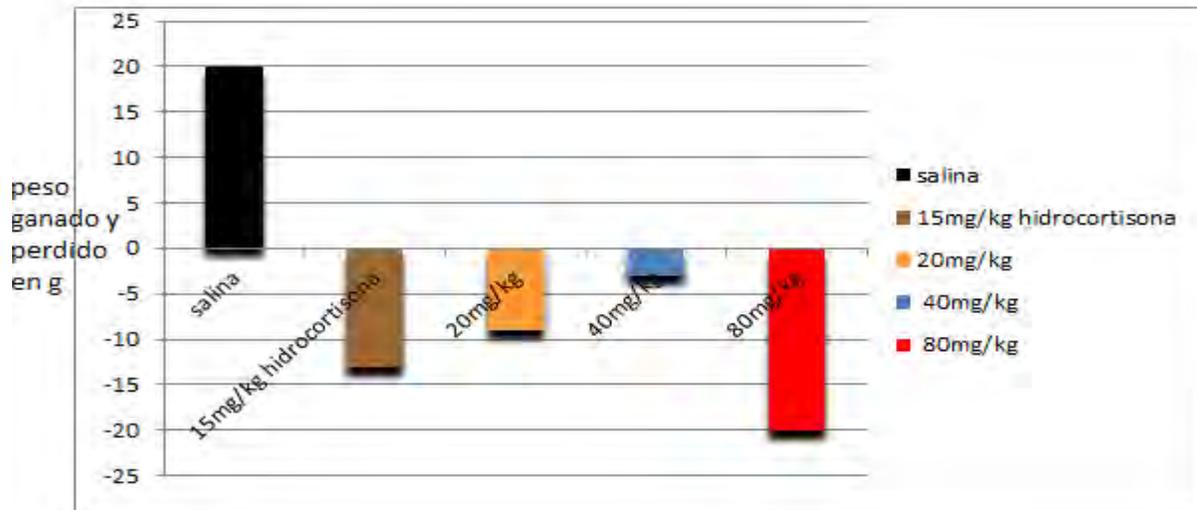
Variable dependiente	(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
						Límite inferior	Límite superior	
pellets secos	TESTIGO SS	HIDROCORTISONA 15mg/Kg	44.00000	191.24888	.999	-519.4247	607.4247	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-280.73333	200.58351	.634	-871.6582	310.1915	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	-216.16667	191.24888	.789	-779.5914	347.2580	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	181.50000	191.24888	.875	-381.9247	744.9247	
	HIDROCORTISONA 15mg/Kg	TESTIGO SS	-44.00000	191.24888	.999	-607.4247	519.4247	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-324.73333	200.58351	.500	-915.6582	266.1915	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	-260.16667	191.24888	.658	-823.5914	303.2580	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	137.50000	191.24888	.950	-425.9247	700.9247	
	EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	TESTIGO SS	280.73333	200.58351	.634	-310.1915	871.6582	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	324.73333	200.58351	.500	-266.1915	915.6582	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	64.56667	200.58351	.998	-526.3582	655.4915	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	462.23333	200.58351	.178	-128.6915	1053.1582	
	EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	TESTIGO SS	216.16667	191.24888	.789	-347.2580	779.5914	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	260.16667	191.24888	.658	-303.2580	823.5914	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-64.56667	200.58351	.998	-655.4915	526.3582	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	397.66667	191.24888	.261	-165.7580	961.0914	
	EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	TESTIGO SS	-181.50000	191.24888	.875	-744.9247	381.9247	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	-137.50000	191.24888	.950	-700.9247	425.9247	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-462.23333	200.58351	.178	-1053.1582	128.6915	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	-397.66667	191.24888	.261	-961.0914	165.7580	
	pellets húmedos	TESTIGO SS	HIDROCORTISONA 15mg/Kg	-6.66667	45.01482	1.000	-139.2816	125.9483
			EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-20.06667	47.21194	.993	-159.1544	119.0211
			EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	-11.66667	45.01482	.999	-144.2816	120.9483
			EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	-21.16667	45.01482	.989	-153.7816	111.4483
HIDROCORTISONA 15mg/Kg		TESTIGO SS	6.66667	45.01482	1.000	-125.9483	139.2816	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-13.40000	47.21194	.998	-152.4877	125.6877	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	-5.00000	45.01482	1.000	-137.6150	127.6150	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	-14.50000	45.01482	.998	-147.1150	118.1150	
EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg		TESTIGO SS	20.06667	47.21194	.993	-119.0211	159.1544	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	13.40000	47.21194	.998	-125.6877	152.4877	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	8.40000	47.21194	1.000	-130.6877	147.4877	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	-1.10000	47.21194	1.000	-140.1877	137.9877	
EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg		TESTIGO SS	11.66667	45.01482	.999	-120.9483	144.2816	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	5.00000	45.01482	1.000	-127.6150	137.6150	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	-8.40000	47.21194	1.000	-147.4877	130.6877	
		EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg	-9.50000	45.01482	1.000	-142.1150	123.1150	
EXTRACTO ACUOSO 80mg/Kg		TESTIGO SS	21.16667	45.01482	.989	-111.4483	153.7816	
		HIDROCORTISONA 15mg/Kg	14.50000	45.01482	.998	-118.1150	147.1150	
		EXTRACTO ACUOSO 20 mg/Kg	1.10000	47.21194	1.000	-137.9877	140.1877	
		EXTRACTO ACUOSO 40 mg/Kg	9.50000	45.01482	1.000	-123.1150	142.1150	

ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pellet seco	Inter-grupos	821065.915	4	205266.479	1.871	.148
	Intra-grupos	2633481.533	24	109728.397		
	Total	3454547.448	28			
pellet húmedo	Inter-grupos	1860.932	4	465.233	.077	.989
	Intra-grupos	145896.033	24	6079.001		
	Total	147756.966	28			

Cuadros 6. Muestra los grupos 5 grupos de comparación tukey y ANOVA de la diferencia de medias con los tratamientos administrados con respecto al peso de los pellets húmedos y pellets secos donde no se observa diferencia significativas en testigo solución salina antiinflamatorio hidrocortisona solución salina y tratamientos del extracto acuoso de hoja santa a diferentes dosis Figuras 16 y 17.

Grafica de pérdida y ganancia de peso corporal ensayo crónico



Tratamiento	Gramos perdidos	gramos ganados
salina		20
15mg/kg hidrocortisona	-13	
20mg/kg	-9	
40mg/kg	-3	
80mg/kg	-20	

Figura 18. Se observa el promedio de peso ganado y perdido de los ratones durante el ensayo crónico del día 1 al día 10 de tratamiento con solución salina, hidrocortisona y extracto acuoso de *piper auritm Kunth* a diferentes dosis, donde el testigo solución salina hubo un aumento de peso normal y el las dosis de antiinflamatorio hidrocortisona hay un marcado descenso en los pesos corporales al igual que las dosis de extracto acuoso de *piper auritm Kunth* siendo la más notable la dosis de 80 mg/kg.

12.3 Ensayo agudo

Grosor de la pata después de una hora de aplicar los tratamientos

En la figura 19. se observan los valores del grosor de la pata (mm) obtenido después de una hora de aplicar los tratamientos, en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados .muestran diferencias significativas entre 20 mg vs testigo solución salina * $p < 0.05$, indometacina 10mg/Kg vs contra 20mg* $p < 0.05$, 40mg/Kg vs 20 * $p < 0.05$, 80mg/Kg vs 20mg/Kg * $p < 0.05$.

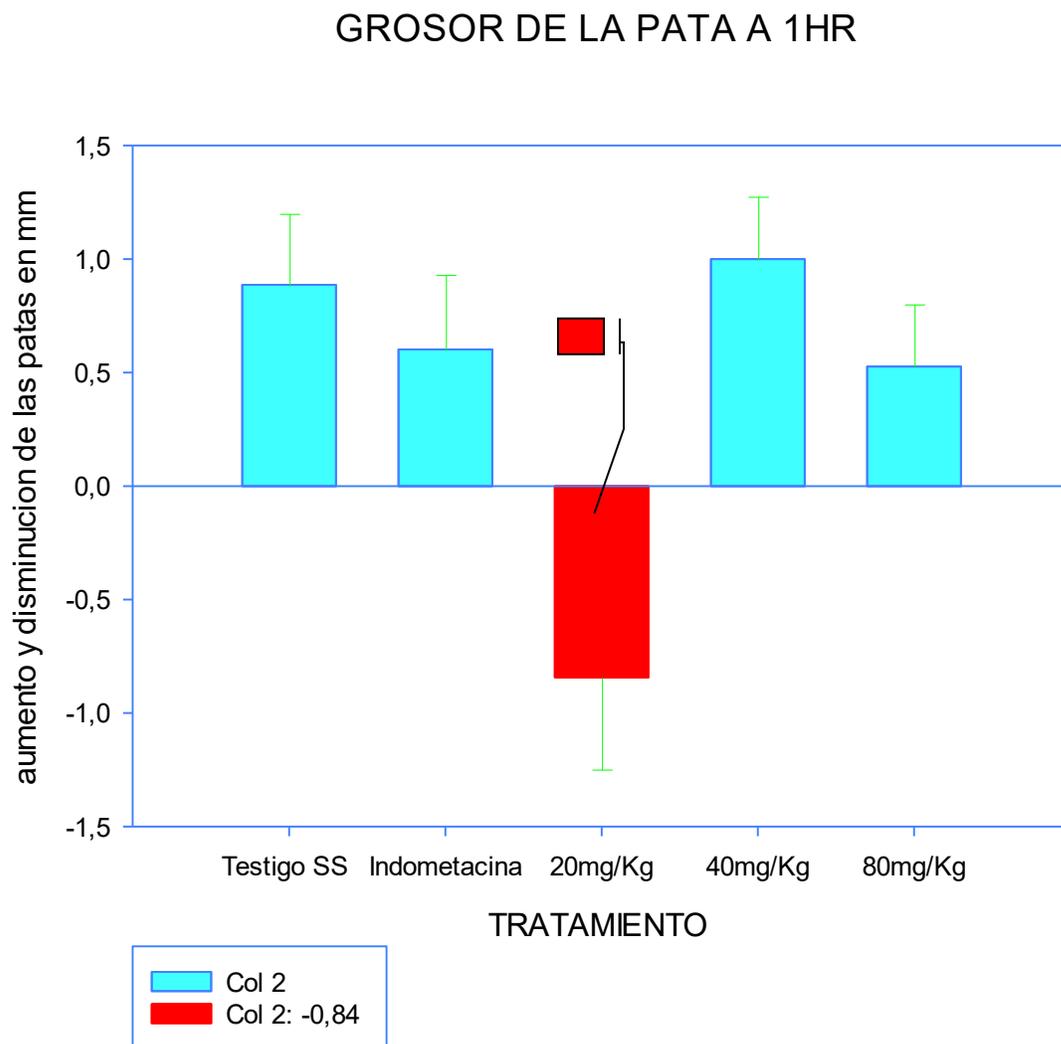


Figura 19. Grosor de la pata en mm, después de una hora de la aplicación de los tratamientos, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, indometacina, 20 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Grosor de la pata después de 2hrs de aplicar los tratamientos

En la figura. 20 se observan los valores del grosor de la pata (mm) obtenido después de 2 hrs de aplicar los tratamientos, en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. En el modelo de ensayo agudo, la dosis de indometacina 10 mg/Kg vs 40 mg/Kg * $p < 0.38$, la dosis de 40 mg/Kg vs 20mg/Kg * $p < 0.01$, 40 mg/Kg vs indometacina 10 mg/Kg * $p < 0.38$, 40 mg/Kg vs 20 mg/Kg * $p < 0.01$ Presentó diferencias significativas

GROSOR DE LAS PATAS A 2 HRS

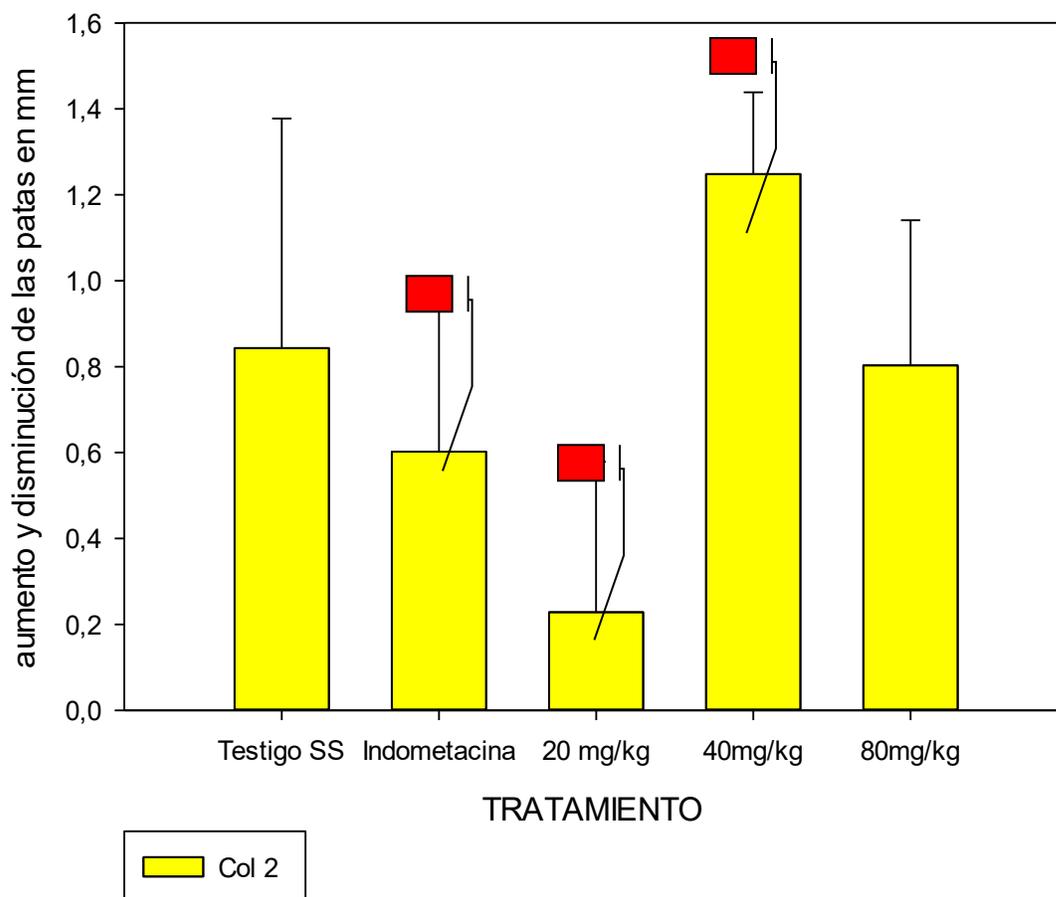


Figura 20. Grosor de la pata en mm, después de 2 hrs de la aplicación de los tratamientos, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, indometacina, 10 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Grosor de la pata después de 3 hrs de aplicar los tratamientos

En la figura 21 se observan los valores del grosor de la pata (mm) obtenido después de 3 hrs después de aplicar los tratamientos, en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. En el modelo de ensayo agudo, la dosis indometacina 10mg/Kg vs 20 mg/ kg vs *P<0.023, 20mg/Kg vs 40mg/Kg *P<0.029 , 40mg/Kg vs 20mg/Kg*P<0.029 presentó diferencias significativas con respecto al testigo, al antiinflamatorio indometacina, y a las dosis de extracto de *Piper auritum kunth* de 40mg/kg y de 80mg/kg.

GROSOR DE LA PATA A 3 HRS

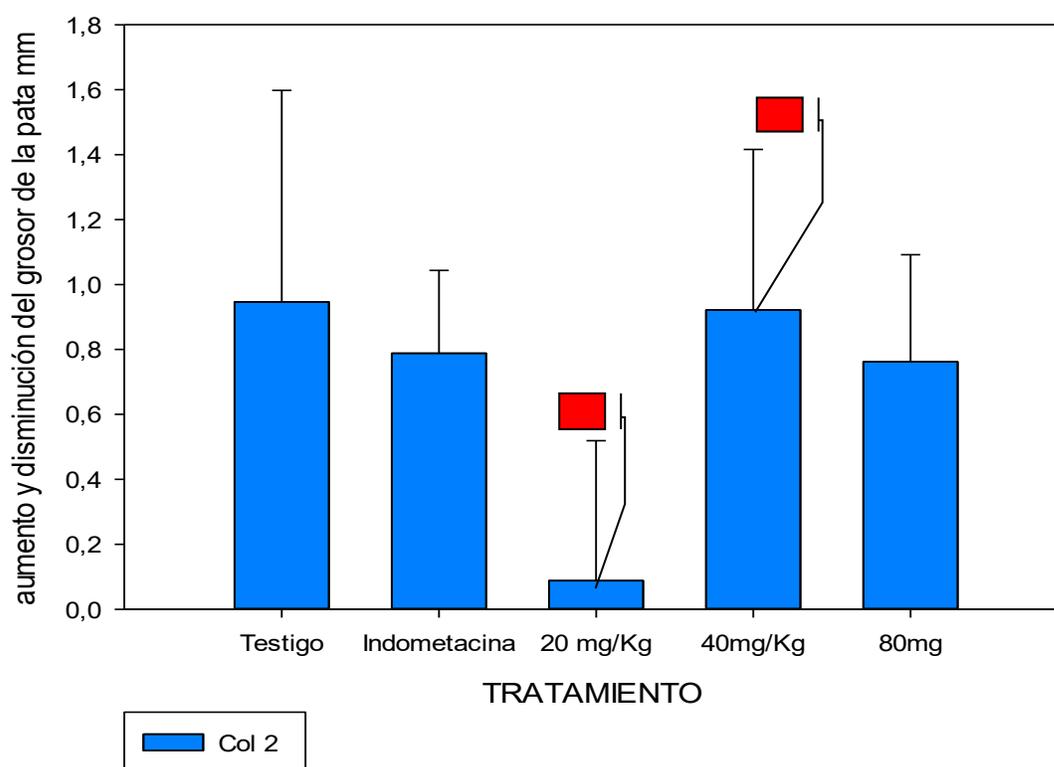


Figura 21. Grosor de la pata en mm, después de 3 hrs de la aplicación de los tratamientos, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, indometacina, 10 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Grosor de la pata después de 4 hrs de aplicar los tratamientos

En la Figura 22. Se observan los valores del grosor de la pata (mm) obtenido después de 4 hrs después de aplicar los tratamientos, en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. La dosis de 20 mg/Kg *P< 0.02 presenta significancia con el grupo testigo, al igual que con el antiinflamatorio Indometacina *P<0.07 y con la dosis de 40mg/Kg *P<0.49.

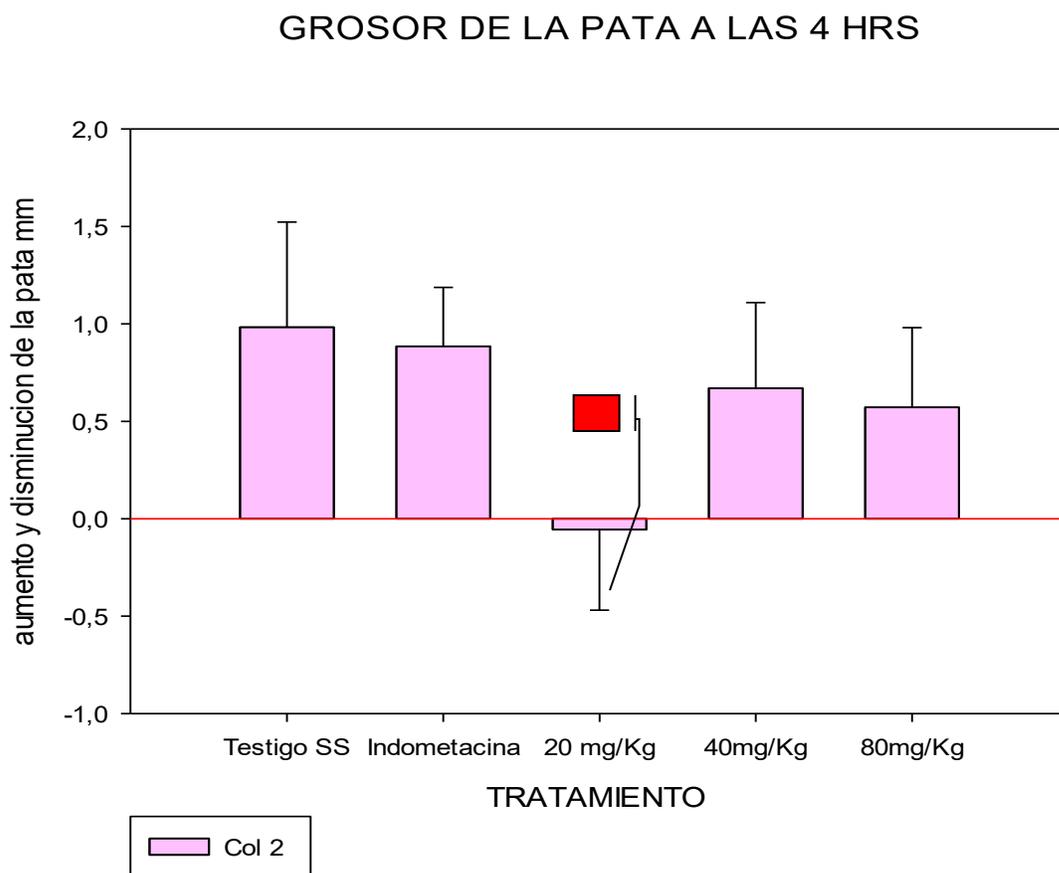


Figura 22. Grosor de la pata en mm, después de 4 hrs de la aplicación de los tratamientos, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, indometacina, 10 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Grosor de la pata después 5 hrs de aplicar los tratamientos

En la figura 23 se observan los valores del grosor de la pata (mm) obtenido después de 5 hrs después de aplicar los tratamientos, en ratones macho cepa CD1 en los cinco tratamientos ensayados. En el modelo de ensayo agudo, la dosis de 20 mg/ kg presentó diferencias significativas con respecto al testigo *P<.005, al antiinflamatorio indometacina *P<.002 y a las dosis de extracto de *Piper auritum* de 40mg/kg *P<.000 y de 80mg/kg P*<.000.

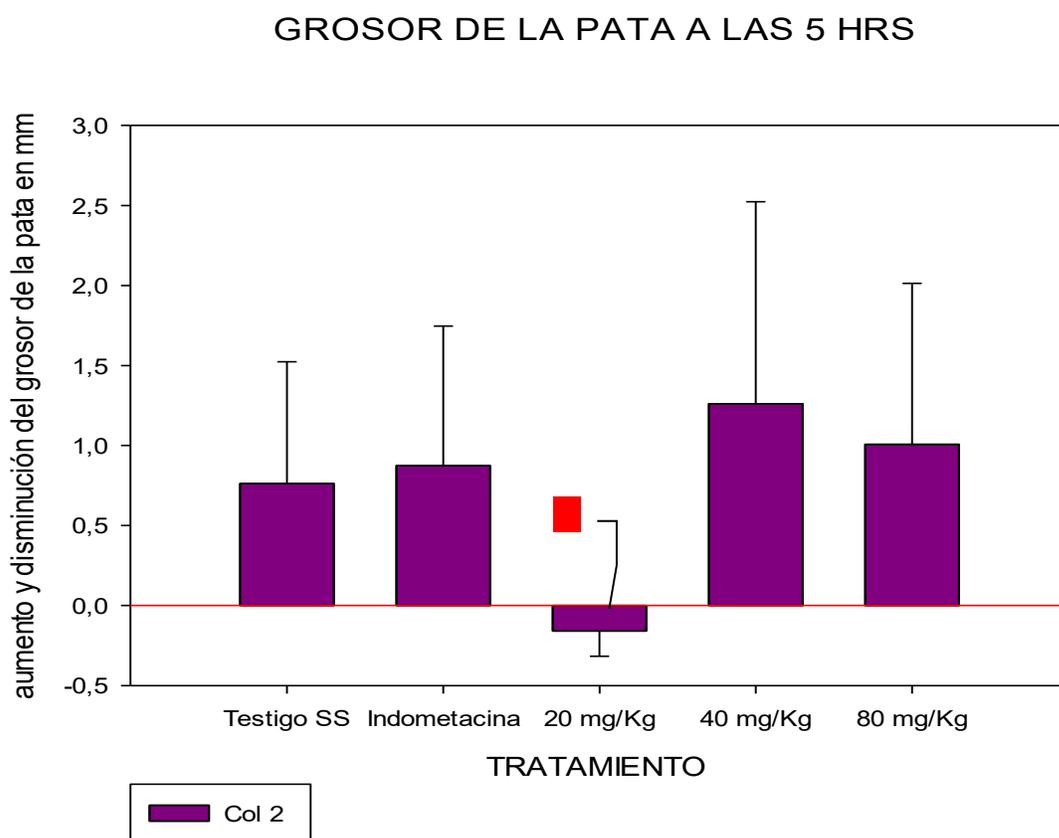


Figura 23. Diferencia de medias grosor de la pata en mm, después de 5 hrs de la aplicación de los tratamientos, obtenidos en ratones macho cepa CD1 en modelo de ensayo crónico en los cinco tratamientos ensayados. SS= solución salina, indometacina, 10 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 20 mg/kg, 40 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 40 mg/kg, 80 mg/kg= extracto de *Piper auritum* 80 mg/kg.

Comparaciones múltiples								
HSD Tukey					confianza			
Variable dependiente		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior		
t1	Testigo	Indometacina	,2850000	,1869361	,557	-,264007	,834007	
		20	1,7300000*	,1869361	,000	1,180993	2,279007	
		40	-,1133333	,1869361	,973	-,662341	,435674	
		80	,3600000	,1869361	,330	-,189007	,909007	
	Indometacina	Testigo	-,2850000	,1869361	,557	-,834007	,264007	
		20	1,4450000*	,1869361	,000	,895993	1,994007	
		40	-,3983333	,1869361	,239	-,947341	,150674	
		80	-,0750000	,1869361	,994	-,474007	,624007	
	20	Testigo	-1,7300000*	,1869361	,000	-2,279007	-1,180993	
		Indometacina	-1,4450000*	,1869361	,000	-1,994007	-,895993	
		40	-1,8433333*	,1869361	,000	-2,392341	-1,294326	
		80	-1,3700000*	,1869361	,000	-1,919007	-,820993	
	40	Testigo	,1133333	,1869361	,973	-,435674	,662341	
		Indometacina	,3983333	,1869361	,239	-,150674	,947341	
		20	1,8433333*	,1869361	,000	1,294326	2,392341	
		80	,4733333	,1869361	,115	-,075674	1,022341	
	80	Testigo	-,3600000	,1869361	,330	-,909007	,189007	
		Indometacina	-,0750000	,1869361	,994	-,624007	,474007	
		20	1,3700000*	,1869361	,000	,820993	1,919007	
		40	-4,7333333	,1869361	,115	-1,022341	-,075674	
	t2	Testigo	Indometacina	,2416667	,2108875	,781	-,377683	,861016
			20	,6150000	,2108875	,052	-,004350	1,234350
			40	-,4050000	,2108875	,333	-1,024350	,214350
			80	,0400000	,2108875	1,000	-,579350	,659350
Indometacina		Testigo	-,2416667	,2108875	,781	-,861016	,377683	
		20	,3733333	,2108875	,412	-,246016	,992683	
		40	-,6466667*	,2108875	,038	-1,266016	-,027317	
		80	-,2016667	,2108875	,872	-,821016	,417683	
20		Testigo	-,6150000	,2108875	,052	-1,234350	,004350	
		Indometacina	-,3733333	,2108875	,412	-,992683	,246016	
		40	-1,0200000*	,2108875	,001	-1,639350	-,400650	
		80	-,5750000	,2108875	,078	-1,194350	-,044350	
40		Testigo	,4050000	,2108875	,333	-,214350	1,024350	
		Indometacina	,6466667*	,2108875	,038	,027317	1,266016	
		20	1,0200000*	,2108875	,001	,400650	1,639350	
		80	,4450000	,2108875	,247	-,174350	1,064350	
80		Testigo	-,0400000	,2108875	1,000	-,659350	,579350	
		Indometacina	,2016667	,2108875	,872	-,417683	,821016	
		20	,5750000	,2108875	,078	-,044350	1,194350	
		40	-,4450000	,2108875	,247	-1,064350	,174350	
t3		Testigo	Indometacina	,1583333	,2618770	,973	-,610766	,927432
			20	,8583333*	,2618770	,023	,089234	1,627432
			40	,0250000	,2618770	1,000	-,744099	,794099
			80	,1850000	,2618770	,953	-,584099	,954099
	Indometacina	Testigo	-,1583333	,2618770	,973	-,927432	,610766	
		20	,7000000	,2618770	,087	-,069099	1,469099	
		40	-,1333333	,2618770	,986	-,902432	,635766	
		80	,0266667	,2618770	1,000	-,742432	,795766	
	20	Testigo	-,8583333*	,2618770	,023	-1,627432	-,089234	
		Indometacina	-,7000000	,2618770	,087	-1,469099	,069099	
		40	-,8333333*	,2618770	,029	-1,602432	-,064234	
		80	-,6733333	,2618770	,107	-1,442432	,095766	
	40	Testigo	-,0250000	,2618770	1,000	-,794099	,744099	
		Indometacina	,1333333	,2618770	,986	-,635766	,902432	
		20	,8333333*	,2618770	,029	,064234	1,602432	
		80	,1600000	,2618770	,972	-,609099	,929099	
	80	Testigo	-,1850000	,2618770	,953	-,954099	,584099	
		Indometacina	-,0266667	,2618770	1,000	-,795766	,742432	
		20	,6733333	,2618770	,107	-,095766	1,442432	
		40	-,1600000	,2618770	,972	-,929099	,609099	

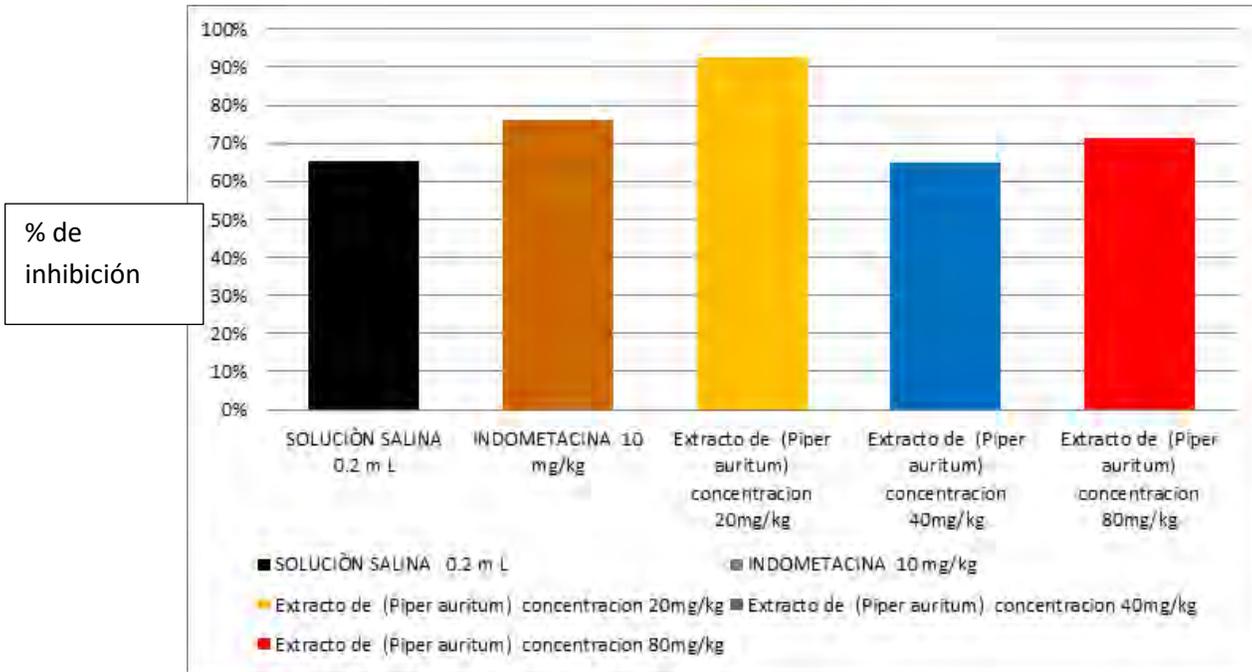
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel $< P 0.05$.

t4	Testigo	Indometacina	,0983333	,2469467	,994	-,626917	,823584
		20	1,0400000*	,2469467	,002	,314749	1,765251
		40	,3133333	,2469467	,712	-,411917	1,038584
		80	,4116667	,2469467	,471	-,313584	1,136917
	Indometacina	Testigo	-,0983333	,2469467	,994	-,823584	,626917
		20	,9416667*	,2469467	,007	,216416	1,666917
		40	,2150000	,2469467	,905	-,510251	,940251
		80	,3133333	,2469467	,712	-,411917	1,038584
	20	Testigo	-1,0400000*	,2469467	,002	-1,765251	-,314749
		Indometacina	-,9416667*	,2469467	,007	-1,666917	-,216416
		40	-,7266667*	,2469467	,049	-1,451917	-,001416
		80	-,6283333	,2469467	,113	-1,353584	,096917
	40	Testigo	-,3133333	,2469467	,712	-1,038584	,411917
		Indometacina	-,2150000	,2469467	,905	-,940251	,510251
		20	,7266667*	,2469467	,049	,001416	1,451917
		80	,0983333	,2469467	,994	-,626917	,823584
	80	Testigo	-,4116667	,2469467	,471	-1,136917	,313584
		Indometacina	-,3133333	,2469467	,712	-1,038584	,411917
		20	,6283333	,2469467	,113	-,096917	1,353584
		40	-,0983333	,2469467	,994	-,823584	,626917
t5	Testigo	Indometacina	-,1116667	,2348196	,989	-,801301	,577968
		20	,9200000*	,2348196	,005	,230365	1,609635
		40	-,5000000	,2348196	,239	-1,189635	,189635
		80	-,2450000	,2348196	,833	-,934635	,444635
	Indometacina	Testigo	,1116667	,2348196	,989	-,577968	,801301
		20	1,0316667*	,2348196	,002	,342032	1,721301
		40	-,3883333	,2348196	,479	-1,077968	,301301
		80	-,1333333	,2348196	,979	-,822968	,556301
	20	Testigo	-,9200000*	,2348196	,005	-1,609635	-,230365
		Indometacina	-1,0316667*	,2348196	,002	-1,721301	-,342032
		40	-1,4200000*	,2348196	,000	-2,109635	-,730365
		80	-1,1650000*	,2348196	,000	-1,854635	-,475365
	40	Testigo	,5000000	,2348196	,239	-,189635	1,189635
		Indometacina	,3883333	,2348196	,479	-,301301	1,077968
		20	1,4200000*	,2348196	,000	,730365	2,109635
		80	,2550000	,2348196	,812	-,434635	,944635
	80	Testigo	,2450000	,2348196	,833	-,444635	,934635
		Indometacina	,1333333	,2348196	,979	-,556301	,822968
		20	1,1650000*	,2348196	,000	,475365	1,854635
		40	-,2550000	,2348196	,812	-,944635	,434635

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Cuadro 6. Comparación de medias y significancias entre los tratamientos en los tiempos de inflamación medidos en mm de las patas de ratón se observa en rojo las $p^* < 0.05$ cercanas donde las dosis de 20 mg/kg en el tiempo 1,4,y 5 figuras (15, 18, 19) solo la dosis de 40 mg Kg mostro actividad antiinflamatoria

Porcentaje de inhibición de edema suplanar de los diferentes tratamientos



TRATAMIENTOS	PORCENTAJE PROMEDIO GENERAL DE INHIBICIÓN DE EDEMA SUPLANTAR EN RATÓN
SOLUCIÓN SALINA 0.2 m L	65%
INDOMETACINA 10 mg/kg	76%
Extracto de (<i>Piper auritum</i>) concentración 20mg/kg	92%
Extracto de (<i>Piper auritum</i>) concentración 40mg/kg	65%
Extracto de (<i>Piper auritum</i>) concentración 80mg/kg	71%

Figura 24. Muestra el porcentaje de inhibición del edema de la pata de ratón en el ensayo agudo después del término del tratamiento donde se muestra una clara superioridad con un 92 % en general del extracto acuoso de *piper auritum Kunth* en la dosis menor de 20 mg/kg sobre el antiinflamatorio no esteroideo de uso comercial indometacina de 10 mg/kg cuyo % fue de 76%, y las demás dosis de extracto acuoso.

XIII. Análisis de resultados

13.1 Extracto acuoso de hoja santa (*Piper auritum Kunth*)

En la obtención de extracto acuoso de hoja santa *Piper auritum* por el método de destilación a presión reducida el rendimiento fue de 200g de hojas 1.98% obteniendo 3.96 g de extracto semisólido (figura lo cual concuerda con registros de rendimientos de 2.3 % para hojas secas y 2.4% para inflorescencias con métodos asistidos por radiación de microondas (García *et al.*, 2007). Para el estudio toxicológico y antiinflamatorio se utilizó un menstuo alcohólico al 70% el cual posee 13.81% de solidos totales y un 55,48% de alcohol (Vega;Lagarto 1999), las concentraciones empleadas para ambos estudios fueron estimadas de acuerdo a los sólidos totales presentes en el extracto.

13.2 Ensayo crónico

Una consecuencia de la formación de edemas es la acumulación anormal de líquido en el espacio intersticial de los tejidos o en las cavidades corporales. El aumento de líquidos puede generar aumento de la presión hidrostática de la sangre, lo que afectaría la funcionalidad del corazón. El incremento de la presión hidrostática en las venas está asociado al sistema renina-angiotensina-aldosterona que provoca retención de sodio y de agua por parte de los riñones y por consiguiente, aumenta el volumen intra vascular, eleva el gasto cardiaco (Vega y Lagarto, 1999). Asimismo, la disminución de la presión osmótica del plasma puede deberse a la pérdida o descenso de albúmina que es la proteína responsable de mantener la presión osmótica. Los antiinflamatorios esteroideos como la hidrocortisona pueden causar la pérdida de albúmina debido a la utilización de la molécula administrada como la hidrocortisona y la disminución de la inflamación y por la mayor permeabilidad de los capilares glomerulares y edema. En el modelo de inflamación crónica no se observaron alteraciones en el hígado, corazón, bazo y riñón, lo que significa que los tratamientos aplicados no generaron la presión hidrostática o cambios en la presión osmótica que condujeran a la retención de sodio (Duke,J.A,Bogenschutz; Godwn,M.J,Celler,J.D, 2002).

El bazo es un órgano linfático que participa en la respuesta inmune contra microorganismos y proteínas extrañas. La sangre que entra al bazo, se filtra a través de los cordones esplénicos y se expone a las células inmunológicamente activas (Fidalgo A.E.L;Rejas J.L, Gopegui 2003).

La administración diaria durante un periodo de 10 días del extracto acuoso de (*Piper auritum Kunth*), por medio de sonda gástrica tomando como modelo de estudio por (Marroquin *et al.*, 2013) en un rango 20 ,40 y 80 mg/kg, en ratones macho albinos cepa CD1 con un peso promedio de 40 g con respecto a las gráficas de los índices esplénicos, cardiacos, hepáticos y renales (Figuras 10,11,12,13,14,15 y cuadros 4 y

5 no mostraron diferencias significativas respecto a los tratamientos administrados comparados con el testigo solución salina, hidrocortisona 15 mg /Kg y extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* a diferentes dosis en rangos de 20,40 y 80mg/Kg por lo que se puede deducir que no existe algún efecto toxico que pudiera causar el extracto acuoso sobre los órganos respecto a la inflamación provocada por los pellets implantados por la técnica de (Marroquin *et al.*, 2013) en migración de linfocitos en los pesos de los pellets húmedos y secos no presenta efecto (Fig.16,17 y cuadro 6) no tuvo afectaciones en este modelo ya que marcadores de inflamación presentes en plasma como nitritos NO₃ y ceruloplasmina (Figura 10, 15 y cuadros 4 y 5) no presentaron diferencias significativas por lo que el extracto acuoso no tuvo un efecto sobre las concentraciones de estos dos marcadores, al realizar las autopsias en los 6 grupos de estudio no se observaron cambios en la morfología y color de los órganos a extraer (Figuras 33) .Posiblemente el extracto acuoso de *piper auritum* no tenga un efecto prolongado como es el caso del antiinflamatorio de uso comercial hidrocortisona en la (Figura 18) respecto a la pérdida de peso o ganancia de los diferentes tratamientos claramente se observa que el grupo testigo hay una ganancia promedio de 20g lo cual es normal, al igual que el antiinflamatorio de uso comercial hidrocortisona 15mg/Kg respecto a la pérdida de peso fue de 13 g promedio ya que la hidrocortisona provoca diuresis y diarrea el extracto a diferentes dosis presento el mismo comportamiento siendo el de dosis de 80 mg/Kg muy superior al del antiinflamatorio con una pérdida de 20 g promedio , se puede deducir no hay antecedentes sobre algún estudio realizado previamente respecto a estos parámetros medidos como marcadores de inflamación ceruloplasmina, nitritos ,en el rango de dosis efectiva ED de 20,40,80mg/kg y registro de pesos corporales en el modelo de inflamación crónico y pérdida de peso, referente al extracto acuoso *piper auritum Kunth* .En la autopsia realizada no se encontraron evidencias de alteraciones patológicas en los órganos analizados(Vega;Lagarto 1999).

13.3 Ensayo agudo

En el ensayo agudo el extracto acuoso *Piper auritum kunth* en ratones CD1 en la inducción de un edema su planar de la pata con carragenina al 1% presento un marcado efecto antiinflamatorio principalmente en la dosis de 20mg /Kg de extracto de *Piper auritum kunth* , un gran efecto antiinflamatorio a las dosis ensayadas frente al edema de la pata inducido por carragenina al 1% (Vega y Lagarto 1999), Un estudio precedente con un extracto acuoso de la planta administrado por vía peritoneal a ratas wistar mostró un 50% de inhibición en una dosis de 816.09mg/kg y una dosis letal 1801,99mg/kg (Vega y Lagarto 1999), algo mayor que la dosis máxima ensayada en nuestro estudio pero mostrando en una proporción una Estas diferencias podrían relacionarse con las especies de roedores utilizadas, con la vía de administración empleada y las características fitoquímicas del extracto. Respecto a los resultados que se obtuvieron en el ensayo agudo inducido con carragenina al 1%, en la pata del ratón respecto a volumen obtenido, la dosis

que tuvo una mejor respuesta significativa con respecto a la dosis de 10mg/kg de antiinflamatorio indometacina fue la dosis de 20 mg /kg de extracto acuoso mostrando con respecto a las dosis de 40 y 80 mg /kg y solución salina en antiinflamatorio de uso comercial Indometacina 10 mg/Kg. Al evaluar 14 plantas que presumiblemente poseían algún efecto antiinflamatorio todas las especies evaluadas en dosis de 400 mg / kg, comparadas con dos antiinflamatorios fenilbutazona y ácido dihidroguairacético fueron eficaces en la reducción del edema inducido por carragenina al 1 % en ratas wistar, a excepción de extracto metanólico de raíz de *Piper auritum* que fue el único inactivo. (Meckes 2003) la dosis mayor de 80 mg/Kg mostro poca actividad antiinflamatoria refutando los mencionado (Meckes, 2003) Pudiera ser que esto se deba a un efecto de rebote que se da en las dosis de muchos fármacos administrados. Con respecto a las comparaciones en tiempos tenemos que en la primera hora (Figura 19 y cuadro 6) la dosis de 20mg/Kg se observa diferencia significativa muy marcada respecto al antiinflamatorio indometacina de 10 mg/Kg ,testigo y tratamientos de 40 y 80 mg/kg donde incluso la extremidad de las patas de este grupo tratado presentaron diuresis y pérdida de líquido de una manera que la medidas registradas sobre la pérdida de volumen fue negativa mostrando que el extracto a la dosis de 20mg/Kg tiene un rápido efecto sobre la inflamación aguda al momento de su administración , a partir de las 2 horas (Figura 20 y cuadro 6) se observa un comportamiento inesperado ya que la dosis de 20 mg/Kg que se esperaba siguiera el mismo comportamiento sobre los demás tratamientos solo mostro una diferencia significativa respecto a la dosis de 40mg/Kg del extracto y la dosis de 40 mg/kg mostro una diferencia significativa con el antiinflamatorio Indometacina, posiblemente la dosis de 20mg/Kg de extracto presenta un efecto intermitente o de rebote a las 3 horas (Figura 21 y cuadro 6) de haber inoculado a este grupo con carragenina 1% se observa la persiste la actividad normal de la dosis de 20 mg/Kg sobre el testigo y una mayor inhibición con la dosis de 40mg/Kg de extracto acuoso aunque sobre el antiinflamatorio Indometacina no presenta alguna diferencia ya sea por el mismo fenómeno de rebote, en la (figura 22 y cuadro 6) a 4 horas la misma dosis de 20 mg /Kg se presenta con un efecto mayor presentando varias di diferencias significativas con el antiinflamatorio de uso comercial Indometacina de 10 mg/Kg teniendo una mayor disminución , al igual que el testigo y la dosis de 40 mg/Kg sobre edema de en la pata de ratón disminución de la inflamación a las 5 horas (Figura 23 y cuadro 6 de haber inoculado el extracto y hacer las mediciones pertinentes claramente la dosis de 20mg/Kg vuelve a manifestar un mayor efecto en disminución del volumen de la pata a valores negativos en sobre el antiinflamatorio Indometacina 10 mg /Kg , testigo solución salina y dosis del mismo extracto de 40mg/Kg y 80mg/Kg extracto acuso tiende a ser intermitente en periodos cortos el extracto en dosis bajas resulta muy eficaz en el tratamiento de la inflamación aguda esto fue corroborado por el % de inhibición (Figura 24 donde se observa que la dosis de 20 mg/kg de extracto acuoso tuvo un 92 % un 16 % más efectivo que y el antiinflamatorio Indometacina 76% en la obtención del porcentaje de inhibición en

la ecuación(Figura 36) ,se puede decir que en periodos de inflamación más prolongados, tiende a disminuir su efecto pero en periodo su acción antiinflamatoria de la hoja santa es muy .

XIV. Conclusiones

ENSAYO CRONICO

Se concluye que el extracto acuoso de hoja santa (*Piper auritum Kunth*) no presenta toxicidad en la dosis efectiva ED administradas en rangos 20,40,80 mg/Kg durante el modelo crónico en los índices, esplénicos, hepáticos, renales y cardiacos no existió ninguna diferencia significativa, ni actividad antiinflamatoria en la administración de pellets que inducían el efecto inflamatorio crónico . Pero si presenta diuresis similar al antiinflamatorio de uso comercial hidrocortisona dosis 15mg/Kg hubo diferencias respecto a los pesos finales de los individuos donde la dosis de 80mg/kg presento la mayor pérdida de peso en los individuos al final del tratamiento.

ENSAYO AGUDO

Se concluye ene que En el modelo de inflamación aguda el extracto acuoso (*Piper auritum Kunth*) presento un efecto antiinflamatorio y diurético superior al antiinflamatorio de uso comercial indometacina de 10 mg/Kg en el dosis efectiva ED de 20 mg/kg y 40 mg/kg en tiempos cortos

XV. Referencias Bibliográficas

- ♠ Alberts, B. y Bray, D (1996). Biología Molecular de la célula. 3ra edición. Omega. EE.UU, pp. 1235.
- ♠ Barceloux, G.D., (2008). Medical toxicology of natural substances foods, fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals, Wiley, EE, UU, pp. 1156.
- ♠ Beltrán G. K. (1986). Farmacología básica y clínica. 2da edición. Manual moderno, EE.UU, pp. 919.
- ♠ Chamizo, E.G.P. Bermúdez R.M.H y Montaña H.M (1995). Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos. Tomas Di Bella, Universidad Autónoma de Baja California, México, pp.231.
- ♠ Chizmar C.F. (2009). Plantas comestibles de Centroamérica. INbio, Costa rica, pp.352.
- ♠ Carhuapoma M.Y Angulo P.H (1999). Plantas Medicinales en Atención Primaria de Salud, Agroindustria Fitoquímica y Ecoturismo: Perspectivas de Desarrollo en la región Los Libertadores Wari, Instituto interamericano para la cooperación para la agricultura IICA, Lima Perú pp.284.
- ♠ Duke, J.A, Bogenschutz, Godwin, M.J, Celler, J.D (2002) Handbook of Medicina Herb. 2da edición, CRC Press, EUA, pp.815.
- ♠ Flórez J (1997). Farmacología Humana, 3ra edición .Masson. España pp.1057.
- ♠ Fonnegra G.R.J, Jiménez S.L.R (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia, 2^{da} edición, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia págs.298.
- ♠ Fidalgo A.E.L, Rejas J.L, Gopegui F.R.R y Ramos A.J.J (2003); Patología Medica Veterinaria, Kadmos, Universidad Santiago Compostela, España, pp. 270.
- ♠ García RA, Antonio ML, Martínez JRM y Stashenko EE (2007) .Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Piper auritum Kunth* (piperaceae) difundida en la costa colombiana, Scientia Et Technica 33:439-442.
- ♠ Germosén RL et al (2005). Farmacopea vegetal caribeña, 2da edición Prosis, Santo Domingo república del Caribe, pp. 485.

- ♠ Goldsby R A, Kindt TJ, Osborne B A, Y Kuby J. (2004). Inmunología, Mac Graw Hill ,5ta edición, EUA, pp. 665.
- ♠ Gómez B.H (2006) Tesis de licenciatura. Extracción y acetilación de los componentes de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* COSTA), Instituto de Ciencias básicas e Ingeniería Licenciatura en Química, Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, pp. 106.
- ♠Gerald J.T, Berdell R F, Christine C L. (2007). Introducción a la microbiología (9a edición), Panamericana, EE.UU, pp. 1378.
- ♠Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (2003). Patología humana, 7a edición, Elseiver, EE.UU. pp. 873.
- ♠Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (2008). Patología humana, 8a edición, Elseiver, EE.UU. pp. 996
- ♠Klassen,CD (2008).Toxicology The Basic Science of Poisons, 7a edición, MacGraw Hill. EE.UU, págs. 1331.
- ♠Marroquín R, Flores M, Carreon R, García BMM, Mora GJLA, Aguilar CA, Hernández AVJ (2009).The effect of the aqueous extract of *Helietta parvifolia* A.Gray (Ruteaceae) stem bark on carrageenan-induced paw o edema and granuloma tissue formation in mice .*Journal of Ethnopharmacology* 124:639
- ♠ Marroquín R,S, Carreón R. S ,Mora J.M.L ,Salvador C V.S, Flores Y.C, Flores M.P Y Hernández J.V.A,(2013) Study of ethanolic extract of *Eryngium heterophyllum* (herb frog).To make sure its hypoglycemic and anti-inflammatory activity, *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 44, núm. 2, abril-junio, 2013, pp. 41-45, Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.Distrito Federal, México.-641.
- ♠Márquez D.S (2011).Tesis de licenciatura (Evaluación del Rendimiento en la Obtención del aceite “*Piper auritum kunth*” mediante la hidrodestilación asistida por microondas), Universidad Veracruzana, Facultad de Química, México pp.63.
- ♠Martin A.D (2005) Patología Quirúrgica, Elseiver, Madrid España,pp.729.
- ♠Mendoza M.N.V, Ugalde R.R., (2009). Estrés oxidativo e inflamación medición e interpretación diagnóstica, Dgapa UNAM pp. 198.

- ♠ Mendoza PN (2008). Farmacología médica .Panamericana. México, D.F pp. 890.
- ♠ Meckes .M., Rivera .D, Aguilar .V, Jiménez .A (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema, Phytomedicine 11:446–45.
- ♠ Martínez M.A (2003). Aceites esenciales, Facultad de Química Farmacéutica. Medellín Colombia, Págs. 34.
- ♠ Nair MG, Sommerville J y Burke BA (1989), Phenyl propenoids from roots of Piper auritum. Phytochemistry, 28:654-655.
- ♠ Quisbert F.N.E (2006), Tesis doctoral: Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género Piper de la flora boliviana, universidad de la laguna Bolivia, pp. 362.
 - ♠ Quintana.P, Carol, W.H (1989) Mexico Feasts of life. Tulsa pp.260. EUA.
- ♠ Repetto M.J y Repetto G.K (2009). Toxicología Fundamental. 4a Edición, Diaz de Santos,
- ♠ Ross M.H y Pawlina .W (2007) Histología, 5ta edición, Panamericana, EE,UU ,pp. 974.
- ♠ Stewart P.G et al (1998). Basic Questions on Alternative Medicine: What Is Good and What Is Not, Kregel Publications, Michigan EE,UU, pp.150.
- ♠ Vega RM y Lagarto A P (1999). Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto de Piper Auritum HBK, y toxicidad aguda oral, Rev cubana 1(4);11-4.
- ♠ Waldman SA, Terzic A (2009). Pharmacology and therapeutics principles to practice. Elsevier. EE.UU pags 329.
- ♠ Wislock P.G, Borchert P, Miller J.A, y Miller E.C (1976) The Metabolic Activation Carcinogen 1'Hidroxysafrole in vivo and in vitro and the Electrophilic Reactivities of possible Ultimate Carcinogen, Cancer Research. 36:168-195.

REFERENCIAS ELECTRONICAS

- ♠ www.fcen.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/TP2-EXTRACCION-2011-F.pdf.
- ♠ <http://www.drugbank.ca/drugs/DB0074> .Wishart D, Knox C Y Law V (2013) Proyecto Drug Bank Open Data & Drug Target Data Base, Canadá.
- ♠ (<http://tropicos.org/Name/25002010>)

XVI Anexos.

Extracto acuoso de Hoja Santa *Piper auritum* Kunth

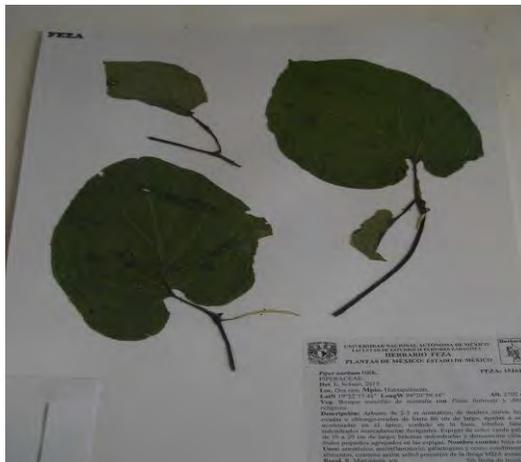


Figura. 25 .Imagen de ejemplar de hoja santa *Piper auritum* Kunth herbario FEZA-UNAM herborizado con el número de registro 15616.



Figura 26.Macerado de hoja santa *Piper auritum* Kunth con agua destilada.



Figura 27.Extracto en polvo obtenido de la hoja santa hoja santa *Piper auritum* Kunth

Ensayo Crónico



Figura 28 Técnica empleada por en el ensayo crónico donde se observa la introducción del pellet en la región escapular para provocar la inflamación dicha técnica fue desarrollada por (Marroquín *et al* 2013).



Figura 29. Forma de administración en ratón por sonda gástrica de todos los tratamientos testigo solución salina, antiinflamatorios de uso comercial hidrocortisona e Indometacina y extracto acuoso de *Piper auritum Kunth* para ensayo crónico y agudo.



Figura 30. Lugares donde se mantuvieron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana Zoológica de 1999 (NOM-062-ZOO-1999) los 30 ratones machos cepa CD1 para el estudio agudo y crónico donde las jaulas se marcaron con cada estudio, y los ratones fueron separados y marcados en 6 grupos de 5 individuos .



Figura 31. Anestesia por éter en ensayo crónico



Figura 32. Sacrificio autopsia y extracción del pellets de algodón y órganos corazón, riñón, hígado y bazo en 30 individuos con los diferentes tratamientos en el ensayo crónico



$$\text{Coeficiente de relación \u00f3rgano animal} = \frac{\text{Peso de \u00f3rgano del rat\u00f3n g}}{\text{Peso del rat\u00f3n g}} \times 100$$

Figura 33. \u00d3rganos extra\u00eddos bazo, h\u00edgado coraz\u00f3n y ri\u00f1\u00f3n para ser pesados inmediatamente, ecuaci\u00f3n usada en el c\u00e1lculo de los \u00edndices de los \u00f3rganos extra\u00eddos.



Figura 34. pellets de algodón extraídos y pesados inmediatamente y puestos en una placa de ELISA para su secado.

GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN POR Sonda Gástrica RATONES MACHOS MADUROS CD 1 ENUMERADOS EN 5 GRUPOS DE 6 INDIVIDUOS (ENSAYO CRONICO).	Peso grs inicio del tratamiento día 1	Colocación del pellet de 10mg inicio de tratamiento	Numero de analisis asignado	Volumen administrado a diario mL	Peso grs al final del tratamiento día 11
SOLUCIÓN SALINA 0.2 ml					
1	42	*	1	0.2	41
2	41	*	2	0.2	40
3	50	*	3	0.2	46
4	47	*	4	0.2	49
5	34	*	5	0.2	45
6	34	*	6	0.2	35
HIDROCORTISONA 15mg/kg					
1	47	*	7	0.235	45
2	50	*	8	0.25	46
3	42	*	9	0.21	40
4	43	*	10	0.215	42
5	44	*	11	0.22	43
6	47	*	12	0.235	44
Extracto de (<i>Piper Auritum</i> HBK) concentración 20mg/kg					
1	47	*	13	0.235	45
2	50	*	14	0.25	46
4	43	*	15	0.21	40
5	50	*	16	0.25	49
6	48	*	17	0.248	49
Extracto de (<i>Piper Auritum</i> HBK) concentración 40mg/kg					
1	47	*	18	0.235	42
2	43	*	19	0.215	44
3	33	*	20	0.165	32
4	37	*	21	0.185	40
5	43	*	22	0.215	43
6	42	*	23	0.21	41
Extracto de (<i>Piper Auritum</i>.HBK) concentración 80mg/kg					
1	47	*	24	0.235	47
2	41	*	25	0.205	41
3	46	*	26	0.23	47
4	44	*	27	0.22	34
5	45	*	28	0.225	44
6	50	*	29	0.25	40

Cuadro 7. Tratamientos empleados en el ensayo crónico ratones CD1 y registro de pesos al inicio y final del tratamiento por 10 días, dosis administradas diariamente en base al peso e implantación de pellets de peso constante al inicio del ensayo

Ensayo Agudo



Fig.35 Imagen forma de administración sub plantar de carragenina al 1% para inducir la inflamación aguda.



$$\% \text{Inhibición} = \frac{(\text{medida del grosor de la pata inicial control}) - (\text{medida final del grosor de las patas de los tratados})}{(\text{medida final del grosor de las patas de los tratados})}$$

Figura 36. Medición del grosor de la pata de ratón con un micrómetro durante el ensayo agudo y ecuación del porcentaje de inhibición de los grupos tratados.

DOSIFICACION DEL EXTRACTO ACUOSO

Peso promedio de los ratones: 40 g

Peso promedio de los ratones: 40 g

Dosis de 20 mg/Kg peso

20 mg----- 1000g

X= 0.952mg-----47.6g

Dosis de 40 mg/Kg peso

40 mg----- 1000g

X= 1.63 mg-----40.8g

Peso promedio de los ratones: 40 g

Dosis de 80 mg/Kg peso

80 mg----- 1000g

X= 3.52 mg-----44g

La cantidad máxima que se puede administrar a un ratón de un peso promedio de 40 g es 0.2 mL, y se requirió preparar 10 mL.

3.52mg-----0.2 mL

X= 160 mg-----10 mL.

Estos cálculos son correspondientes a gradientes de diluciones, en donde se pesó 160 mg de extracto crudo en una balanza analítica mismo que fue colocado en un vaso de precipitados el cual fue solubilizando con 10 ml de solución salina tomando con una jeringa estéril del mismo volumen , donde se homogenizo la solución con la ayuda de un sonicador a esta solución de concentración 100 mg se le denomino solución A patrón , de la solución A patrón con otra jeringa estéril de 10 ml se tomó un volumen de 5 ml, el cual fue colocado en una botella nuclon estéril de 25 ml donde se le agrego un nuevo volumen de 5 ml de solución salina obteniendo la concentración de 80mg , a esta solución se le denomino solución

B, de esta solución se procedió a preparar la solución de 40 mg solución C, en donde se tomó 5 ml de la solución B mismos que se colocaron en otra botella nuclon de 25 ml adicionando 5 ml de solución salina , de la solución C se tomaron 5 ml y adicionaron botella nuclon etiquetada donde también se adicionaron 5 ml de solución salina obteniendo así una concentración de 20 mg solución D.

HIDROCORTISONA (15mg/Kg)

*15mg-----1000g

X= 0.68mg-----45.5g

ENSAYO AGUDO

ANTIINFLAMATORIO INDOMETACINA 10.mg/kg

Peso promedio de los ratones 40g

10mg---1000g

X=0.40mg---40g

*0.40mg---0.2mL

X=1.79mg---1mL

Se partió de capsulas de Indometacina de 25mg las cuales se disolvieron en 5mL.de goma ghatti,se denominó solución A de esta solución se tomó 1mL. y disolver en 2.85mL.de goma ghatti,

Carragenina (1%)

*Se pesaron 50 mg de carragenina.

*Se disolvieron en 5 mL Solución inyectable.

Goma Ghatti(1%)

*Pesar 0.2g de goma ghatti. *Se disolvió en 20 mL de agua destilada en el horno de microondas por ciclos de 10 segundos.

Nitritos absorbancia curv	Columna1
Concentración NaNO2 mg/d	Absorbancia
0	0.009
0.2	0.105
0.4	0.206
0.6	0.3
0.8	0.406
1	0.498

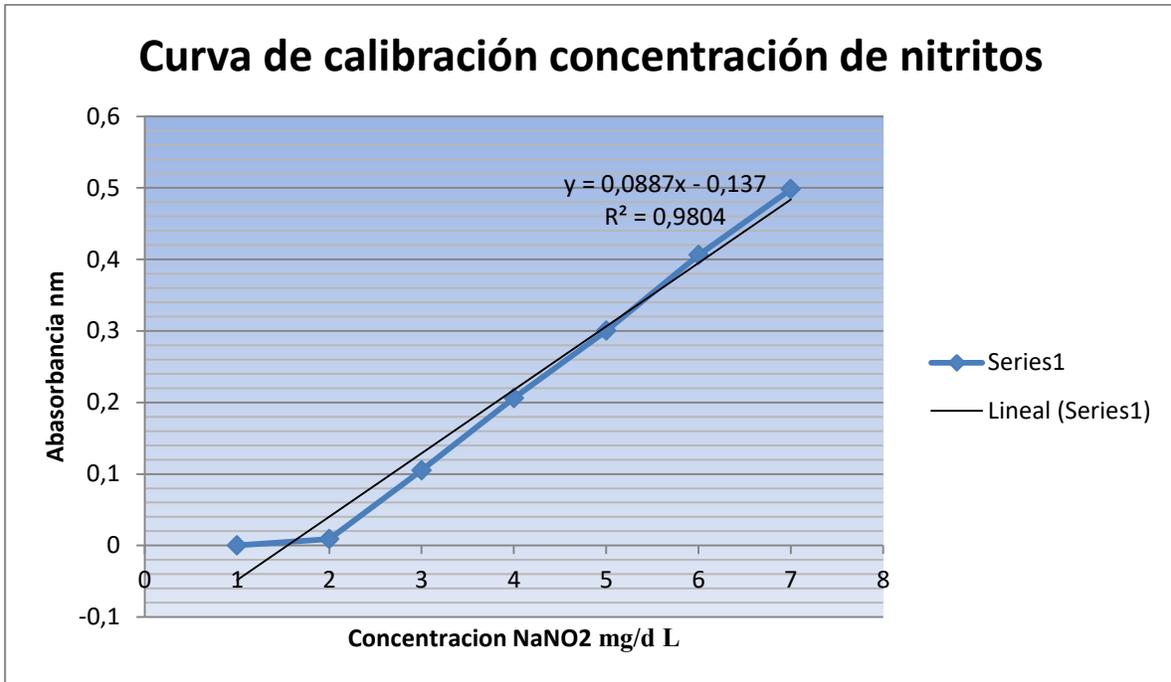


Figura 37. Curva de calibración en la determinación de nitritos ensayo crónico.