

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA.

**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE
Brunfelsia grandiflora (CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS
INDUCIDA A RATAS ALBINAS**

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

Bachiller:

EDUARDO BREMI QUICO PACHECO

ASESOR:

MG. Q.F. JOSÉ FERNANDO SALVADOR CARRILLO

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

Para mis padres que siempre me apoyaron con sus consejos y fuerzas para seguir adelante, pese a todo siempre estuvieron ahí ayudando logrando que hoy llegue hasta aquí.

A mi hermana que sin su apoyo tanto académico como moral no podría haber llegado a culminar este trabajo.

A toda la familia con quien tengo bastante cercanía, por el entendimiento en los desplantes que a veces por motivos académicos no pude acompañarlos.

AGRADECIMIENTO

Agradecer en primer lugar a mi alma mater, la universidad Inca Garcilaso de la Vega, lugar que me acogió como estudiante y me ayudo a ser una mejor persona.

A los profesores que me enseñaron, jefes de laboratorio, auxiliares y demás que siempre estuvieron ahí apoyando en consultas y diferentes situaciones.

A mi asesor Fernando Salvador Carrillo por el apoyo incondicional y la paciencia para con el trabajo.

A los jefes inmediatos del trabajo, QF Alan, Carmen, Roxana, Jose Luis por su amistad y apoyo incondicional en todo este proceso.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice general	
Índice tablas	
Índice de figuras	
Indice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Problemas	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes del estudio	5
2.1.1. Nacionales	5

2.1.2. Internacionales	7
2.2. Bases teóricas	8
2.3. Hipótesis	20
2.3.1. Hipótesis general	20
2.3.2. Hipótesis específicas	20
2.4. Variables	20
2.4.1. Tabla de operacionalización de variables	20
2.5. Marco conceptual	21
CAPÍTULO III: MÉTODO	22
3.1. Tipo de estudio	22
3.2. Diseño a utilizar	22
3.3. Población	27
3.4. Muestra	27
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	27
3.6. Procesamiento de datos	28
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	29
4.1. Presentación de resultados	29
4.2. Contrastación de hipótesis	34
4.3. Discusión	38
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
5.1. Conclusiones	40
5.2. Recomendaciones	40
REFERENCIAS	41
ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla Nº 1. Parámetros para evaluar la actividad y daño en pacientes con AR	14
Tabla Nº 2. Propiedades farmacológicas de algunos alcaloides	17
Tabla Nº 3. Beneficios en enfermedades cardiovasculares de los compuestos fenólicos	18
Tabla Nº 4. Diseño experimental del ensayo de toxicidad aguda (DL50)	24
Tabla Nº 5. Grado de gravedad de claudicación e inflamación según valores de score	25
Tabla Nº 6. Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	29
Tabla Nº 7. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	30
Tabla Nº 8. Resultados del ensayo de toxicidad aguda	31
Tabla Nº 9. Valores medios de Score de la actividad sobre la artritis reumatoide de de la corteza de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura N°1. Planta de <i>Chiric sanango</i>	10
Figura N°2. Articulación normal y articulación afectada por artritis reumatoide	11
Figura N°3. Manos inflamadas en la artritis reumatoide	12
Figura N°4. Nódulo en codo en paciente con artritis reumatoide	13
Figura N°5. Efectos de la interleucina 1 en la artritis reumatoide	15
Figura N°6. Estructura química de algunos alcaloides	17
Figura N°7. Algunos ejemplos de compuestos fenólicos	19
Figura N°8. Estructura química de flavonoles y flavonas	19
Figura N°9. Valores de score según grupos de tratamiento de la corteza de de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	33
Figura N°10. Porcentaje de actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	34

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág
Anexo N° 1. Matriz de consistencia	45
Anexo N° 2. Clasificación taxonómica de Chiric sanango	47
Anexo N° 3. Certificado sanitario de las ratas albinas	48
Anexo N° 4. Constancia de practica	49
Anexo N° 5. Validación de instrumentos	50
Anexo N° 6. Testimonios fotográficos	56

Resumen

La enfermedad artritis reumatoide es de carácter autoinmune, afecta particularmente a las articulaciones y suele afectar a otras partes del organismo como los ojos, vasos sanguíneos, corazón, pulmones, además de la parte psicológica del paciente. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango). Se identificó los principales metabolitos secundarios, se evaluó la toxicidad aguda y para inducir artritis a ratas se empleó el adyuvante de Freund, para valorar el efecto sobre la artritis se usó valores de score de claudicación e inflamación. Se formó 6 grupos de tratamiento; Grupo experimental (GE) 1 Chiric sanango 250 mg/kg + inducción de artritis (IA), GE2 Chiric sanango 500 mg + IA, GE3 Chiric sanango 1000 mg/kg + IA, GE4 Metotrexato 0,2 mg/kg + IA, GE5 sólo fue la inducción de artritis y G6 Agua destilada 5 mL/kg. Se observó que el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango fue soluble en solventes de carácter polar como el etanol, agua y metanol, se halló la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y esteroides y/o triterpenoides. La dosis letal media fue superior a los 5000 mg/kg de peso. En las 3 dosis evaluadas se observó que el extracto de Chiric sanango permitió la recuperación de la movilidad de las ratas y disminuyó la inflamación articular ($p < 0.05$), la dosis con mayor efecto fue de 1000 mg/kg (70%) seguido de la dosis de 500 mg/kg (55%) y 250 mg/kg (35%) respectivamente, es decir el efecto fue dosis dependiente, sin embargo el metotrexato mostró tener mejor efecto que los otros grupos de tratamiento. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) evidenció tener efecto sobre la artritis inducida a ratas.

Palabras clave: *Brunfelsia grandifolia*, chiric sanango, artritis, ratas

ABSTRACT

The disease rheumatoid arthritis is of autoimmune nature particularly affects the joints and usually affects other parts of the body such as eyes, blood vessels, heart, lungs in addition to the psychological part of the patient. The main objective of the study was to determine the effect on albino rats induced arthritis of the hydroalcoholic extract of the bark of *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango). Identification of the main secondary metabolites was carried out, acute toxicity was evaluated, and to induce arthritis in rats, Freund's Adjuvant was used to assess the effect on arthritis. Score values of claudication and inflammation were used. 6 treatment groups were formed; G1 Chiric sanango 250 mg / kg + arthritis induction (AI), G2 Chiric sanango 500 mg + AI, G3 Chiric sanango 1000 mg / kg + IA, G4 Methotrexate 0.2 mg / kg + IA, G5 was only the induction of Arthritis and G6 Distilled water 5 mL / kg. It was observed that the hydroalcoholic extract of the bark of Chiric sanango was soluble in polar solvents such as ethanol, water and methanol, the presence of secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, phenolic compounds and steroids and / or triterpenoids was found. The mean lethal dose was higher than 5000 mg / kg of weight. In the three dose levels tested it had an effect on arthritis since they recovered the mobility of the rat and decreased joint inflammation ($p < 0.05$), the best was with the dose of 1000 mg / kg (70%) followed by the doses of 500 mg / kg (55%) and 250 mg / kg (35%) respectively, that is, the effect depends on the dose, however methotrexate showed a better effect than the other treatment groups. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the bark of *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) showed an effect on the arthritis induced in rats.

Keywords: *Brunfelsia grandifolia*, chiric sanango, arthritis, rats

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) se presenta con inflamación crónica, autoinmune, se caracteriza por presentar dolor, tumefacción y rigidez en las articulaciones, además de otros síntomas; inapetencia, fiebre ligera, malestar, cansancio, disminución de peso, con el tiempo suelen afectar otros lugares extra articulares como la piel, corazón, pulmones, vasos sanguíneos, sangre y los ojos, en fases crónicas y sin tratamiento suele causar limitaciones en la actividad física y afecta la calidad de vida del paciente.¹ Esta enfermedad también suele afectar la parte psicológica del paciente, en especial a su entorno social que incluye el área laboral.² El tratamiento consiste en disminuir la inflamación significativamente para un alivio sintomático, preservar la capacidad funcional de las articulaciones, retrasar o retener la lesión de la estructura articular, prevenir la morbilidad y mortalidad.³ El interés por usar las plantas medicinales sigue en aumento y la posibilidad de usarla en atención primaria de la salud, por ello es importante el desarrollo de fitomedicamentos, apreciados en mercados nacionales e internacionales por su calidad e inocuidad, se ha estimado que el 80% de las personas en el mundo, es decir más de cuatro mil millones de personas usa con frecuencia plantas como principal alternativa medicinal.⁴ La especie vegetal *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) es usada en la Amazonía del Perú por curanderos para tratar diversas dolencias como dolor, inflamación, tratamiento de heridas, entre otros como en el tratamiento de la leishmaniasis tegumentaria, además es usada como planta ornamental, en su corteza se han hallado la presencia de alcaloides al que le atribuyen sus propiedades medicinales.⁵ En el presente trabajo se realizó bioensayos farmacológicos y ensayos fitoquímicos, en tal sentido el objetivo fue determinar el efecto sobre la artritis del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) en ratas albina

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria, multisistémica, de etiología desconocida, afecta preferentemente a la membrana sinovial y articulaciones.⁶ Afecta con mayor frecuencia a las mujeres más que a los hombres, se puede iniciar a cualquier edad, por lo general aparece en adultos mayores, se caracteriza por dolor, rigidez, tumefacción en las articulaciones, además de sensación de malestar, cansancio, fiebre ligera, pérdida de peso, inapetencia; sin tratamiento los síntomas aparecen con mayor frecuencia y de mayor duración, llegando a un acentuado deterioro de la calidad de vida y capacidad funcional.¹ Para el tratamiento de esta enfermedades crónicas como la artritis, se han empleado diversos grupos farmacológicos como es el caso de los antiinflamatorios no esteroides y los corticosteroides, los mismos que se han asociado con variados efectos adversos, por ello los pacientes que padecen de enfermedades musculoesqueléticos buscan métodos alternativos de tratamiento para el alivio sintomático, uno de estos métodos es la medicina herbaria (fitoterapia).⁷ Para el adecuado uso de las plantas medicinales, además de conocer sus usos populares, se requiere realizar estudios fitoquímicos como identificar, purificar, aislar y elucidar la estructura de los compuestos activos, realizar ensayos de efectos toxicológicos, bioquímicos y farmacológicos para valorar sus bondades terapéuticas sobre diversos sistemas del organismo con la finalidad de incorporarlo a la terapéutica y producción de fitomedicamentos.⁸ En este sentido, es necesario integrar conocimientos empíricos con los conocimientos científicos que se sustentan en la experimentación y observación para validar las propiedades terapéuticas, como en nuestro caso de valorar el efecto sobre la artritis inducidas a ratas de la corteza de la planta *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango).

1.2. Problemas

1.2.1. Problema general

- a. ¿El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) tendrá efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas?

1.2.2. Problemas específicos

- a. ¿Cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)?
- b. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) que presentará mayor efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas?
- c. ¿Cuál será el porcentaje de efectividad del efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- a. Determinar el efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

1.3.2. Objetivos específicos

- a. Determinar los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

- b. Determinar la dosis del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) que presentará mayor efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas.
- c. Determinar el porcentaje de efectividad sobre la artritis inducida a ratas albinas de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

1.4. Justificación e importancia del estudio

En nuestro país, aproximadamente más del 15% (una de cada 6 personas) padece de algún tipo de artritis, el 2,6% que padece de artritis limita sus actividades cotidianas; en Estados Unidos la artritis es causa con mayor frecuencia de discapacidad en los adultos y se ha estimado un costo de 128 billones de dólares en atención médica, así mismo se estima que más de 52,5 millones de adultos que superan los 18 años de edad tienen diagnóstico médico de artritis.⁹ La OPS (Organización Panamericana de la Salud) establece la importancia de incluir la fitoterapia en los sistemas de salud en las Américas.¹⁰ Por tanto, realizar investigaciones experimentales que demuestre las bondades terapéuticas de las plantas medicinales son aceptadas en todo el mundo, tanto por la comunidad académica como la población, porque brinda sustratos científicos para el uso adecuado de los diferentes órganos de la planta. En nuestro estudio se muestra evidencia del efecto de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) sobre la artritis, con los resultados se beneficiarán las personas que padecen de enfermedades musculoesqueléticas con especial atención a la artritis reumatoide, por el cual se brindará una alternativa a los tratamientos convencionales, que en muchos casos causan variados efectos adversos. Por otro lado, será de mejor acceso a la población y a menor costo y menor efecto adverso que los esquemas actuales de tratamiento. Así mismo los productores y comercializadores se beneficiarán por que aumentaría la demanda de compra de la planta de Chiric sanango.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Flores D, et al. ¹¹ 2018. Realizaron el estudio “protección osteoarticular de *Zea mays* L. variedad morada (maíz morado) en artritis experimental en ratas”. Nos dicen que, para el estudio usarón 65 ratas albinas cepa Holtzman, divididos en 7 grupos; primero control; segundo pristane (PIA) + agua destilada; tercero metotrexato 0,1 mg/Kg + PIA; cuarto indometacina 0,6 mg/Kg + PIA; quinto Zea maíz 100 mg/Kg + PIA; sexto Zea maíz 1000 mg/Kg + PIA y séptimo metotrexato 0,1 mg/Kg + PIA + Zea maíz 1000 mg/Kg. Todos estos tratamientos fueron administrado por vía oral por 21 días, administraron el pristane vía subdérmica sólo el primer día. Evaluaron según el criterio de Clark modificado. Hallaron que el porcentaje de inflamación fue: G1: 1,50; G2: 13,73; G3: 14,76; G4: 14,22; G5: 10,81; G6: 5,31; G7: 6,38. La valoración radiológica de las áreas afectadas fueron: G1: 0.6; G2: 3.5; G3: 0.6; G4: 1.7; G5: 1.9; G6: 1.4; G7: 1.0. El grupo de *Zea maíz* L. 100 mg/Kg y metotrexate + *Zea maíz* L. 1000 mg/Kg evidenciaron disminución de la inflamación significativamente ($p < 0,05$) a la vez el puntaje articular fue significativamente bajo comparado con PIA. Concluyen que el maíz morado disminuye la inflamación y modificó las radiológicas de la artritis producida por PIA (pristane) en ratas el efecto fue a dosis dependiente.

Ramos N. ⁵ 2012. Realizó el estudio “composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de *Brunfelsia grandiflora* D. Don (chiric sanango)”. Nos dice que, caracterizaron los constituyentes químicos mediante marcha fitoquímica, luego mediante análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas, detectaron la metabolitos tipo alcaloides de núcleo indólico, estrictamina, voacangina,

ibogamina, pseudokopsinina, entre otros. La actividad antioxidante lo realizaron mediante el radical DPPH (2,2-difenilpicrilhidrazil), hallaron que no tiene capacidad antioxidante. Por otro lado, elaboraron pomadas al 1, 2 y 3 g% para luego evaluar su actividad cicatrizante, para ello emplearon 36 ratones machos adultos albinos con peso promedio de 35 g divididos en 6 grupos (n=6), la herida (incisiones) lo realizaron en el lomo (tercio anterior dorsal), evaluaron la cicatrización según método tensiométrico propuesto por Howes et al, hallaron que la tensión media fue de 137 mL de agua y se calculó eficacia el cual fue 59,4 % con la pomada al 3% del extracto, así mismo mejoró la evolución histológica durante la cicatrización de heridas.

Castro A, et al. ¹² 2012. Realizaron el estudio “análisis estructural del extracto etanólico del tallo de *Brunfelsia grandiflora* D. Don y su efecto neuropatológico en el cerebelo de rata”. Nos dicen que, realizaron la elucidaron la estructura mediante cromatografía de gases y por espectrometría de masas en el cual identificaron al etil éster del ácido vainílico, octadecano, octacosano, linoleato de etilo, ácido palmítico, 7 hidroxí-6-metoxi-cumarina y ácido linoleico. Realizaron además el análisis de citotoxicidad en embriones de *Tetrapygus niger* de erizo de mar negro. Usaron ratas Holtzman machos peso promedio 250 g para evaluar el efecto neuropatológico, usaron concentraciones del extracto de 7,5 y 15 mg/mL. Hallaron en las neuronas deformación con protoplasmas desorientados, vacuoladas, balonadas y necrosadas, con núcleos grandes y deformes, en otras se observó sin núcleos. Concluyen que la especie en estudio tiene efecto neuropatológico en cerebelo de rata, que afecta al núcleo cerebelar profundo.

Campos K. ¹³ 2018. Realizó el estudio “evaluación biológica de la actividad tóxica aguda y del efecto antiinflamatorio sobre la artritis reumatoide inducida por colágeno tipo II en el modelo animal ratas machos de la cepa Lewis (MCH haplotipo RT1) del pulverizado del

coleóptero *Ulomoides dermestoides*”. Nos dice que, emplearon el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* “gorgojo del maní” como alternativa de tratamiento de la artritis. Indujeron artritis con colágeno tipo II de bovino. Usaron dosis distintas del pulverizado UD 1000 mg/Kg, UD 500 mg/Kg, UD 250 mg/Kg, además usaron grupo control uno con agua destilada y otro metotrexato 0.2 mg/Kg. Hallaron que la dosis letal media fue mayor de 5 g de pulverizado/Kg de peso. Las tres dosis evidenciaron tener efecto antiinflamatorio, en el análisis histológico mostraron disminución de la inflamación en tejido sinovial y la erosión del hueso fue menor ($p < 0.01$) comparado con el grupo de colágeno sin tratamiento, Las tres dosis tuvieron efecto similar al metotrexato. Concluyen que la muestra en estudio tiene efecto antiinflamatorio en el modelo animal empleado además no presentó efectos tóxicos.

2.1.2. Internacionales

Núñez Y, et al. ¹⁴ 2005. Realizaron el estudio “efecto del MVZ sobre la artritis inducida por adyuvante completo de Freund y ensayo de tolerancia”. Nos dicen que, para inducir artritis administraron a ratas el adyuvante completo de Freund por vía subplantar, en una solución oleosa de jengibre (MVZ). Determinaron el porcentaje de inflamación según diferentes tratamientos. Además realizaron un ensayo de tolerancia en ratones albinos, los cuales estuvieron en ayunas 4 h, seguido administraron MVZ por vía oral en dosis de 1 mL por cada 20 g, registraron los síntomas tóxicos. El MVZ a dosis de 6,5 mL/kg administrado durante 30 días luego de administrar el agente inductor de artritis, evidenció tener mayor actividad antiinflamatoria que el tenoxicam 2,5 mg/kg, en la prueba de tolerancia, el MVZ no evidenció síntomas tóxicos, ni mortalidad, ni alteraciones macroscópicas de órganos como hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón.

De Simone E, et al. ¹⁵ 2017. Realizaron el estudio “estudio comparativo de la fase temprana de artritis experimental en 3 modelos de ratas”. Nos dicen que, fue un estudio de diseño retrospectivo en donde se compararon estudios anteriores, como 1) corte de ligamento cruzado (CLX), el de artritis inducidas por adyuvantes en dos formas 2) subplantar (ASP) y 3) intraarticular (AIA). Las variables que tuvieron en cuenta fueron: radiología, histología, estado clínico y marcadores plasmáticos de inflamación (IL-4, IL-6; IL1 beta, TNF alfa, MMP-2 y MMP-9). Hallaron que el modelo AIA evidenció significativamente varios parámetros al comparar con el control, así mismo los niveles de IL-1 aumentaron en todos los modelos de artritis comparado con el basal, por otro lado, el valor más bajo de IL-4 observaron en el modelo AIA ($p < 0,01$), los valores que aumentaron de MMP-2 fueron en el modelo ASP. Concluyen que, en un estudio temprano (7 días) los modelos estudiados mostraron muchas diferencias en las variables de estudio.

Sousa C, et al. ¹⁶ 2018. Realizaron el estudio “diferentes extractos de hojas de *Brunfelsia uniflora* en ratones. Nos dicen que, en Brasil observaron que plantas venenosas afectaban el sistema nervioso del ganado, entre ellos la *Brunfelsia uniflora*, por ello realizaron estudios de toxicidad en ratones suizos distribuidos en cuatro grupos, los ratones que recibieron el extracto mostraron signos de moderado a grave que incluyen piloerección, convulsiones, a las cuales atribuyeron estos efectos a las saponinas presentes en las hojas de esta especie.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Planta de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

a. Ubicación taxonómica

Reino: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase : MAGNOLIOPSIDA

Sub clase: ASTERIDAES

Orden: SOLANALES

Familia: SOLANACEAE

Género: *Brunfelsia*

Especie: *Brunfelsia*
glandiflora D. Don

b. Aspectos generales de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Es un arbusto que puede llegar en altura hasta 5 metros, su corteza es dura, sus hojas son alternas miden de 15 a 20 cm de largo y de ancho entre 5 y 8 cm, sus flores son de color morado y blanco de 3,5 a 4 cm de longitud en forma de campana, su cáliz es corto de longitud mide entre 1,5 a 2 cm, su fruto es una baya en forma ovada redondeada. Lo podemos encontrar en la región amazónica del Perú a una altura de 200 metros sobre el nivel del mar en departamentos como Cusco, Loreto, San Martín.⁵

c. Usos populares del Chiric sanango

En la Amazonía peruana es muy empleada, su raíz es usada para tratar la sífilis y problemas reumáticos, sus hojas en forma de cocimiento se usan para combatir la artritis y reumatismo, además para tratar mordeduras de serpientes, resfríos, fiebre amarilla y enfermedades

venéreas ¹⁷. La corteza en cocimiento se usa en casos de quemaduras al igual en lesiones producidas por la leishmaniosis, también se ha observado que posee efectos narcóticos, estudios previos de composición química han observado compuestos tipo alcaloides en sus raíces, semillas, hojas y corteza, además de la presencia de saponinas, otros componentes como ácido láctico, ácido quínico, ácido tartárico, escopoletín ⁵.



Figura N° 1. Planta de Chiric sanango

Fuente. Instituto Nacional de Salud.¹⁷

2.2.2. Artritis reumatoide

La enfermedad de artritis reumatoide (AR) afecta en especial a las articulaciones con mayor frecuencia en los dedos y la muñeca, se caracteriza entre otros por presentar inflamación, dolor, rigidez, pérdida de función en cualquier articulación, padecen más mujeres que hombres, los síntomas pueden aparecer luego desaparecer, en casos severos puede durar toda la vida. Esta enfermedad puede afectar otros órganos como la boca, pulmones, ojos, es decir tiene carácter autoinmune, el sistema inmunitario ataca a los propios tejidos.¹⁸ La AR es de etiología multifactorial, se presenta con inflamación crónica, degenerativa y sistémica, ataca a las membranas sinoviales de todas las articulaciones en mayor o menor grado que en ocasiones conduce a discapacidad severa. Los nódulos reumatoides son manifestaciones frecuentes extra-articulares, se presentan en 7% de los casos en etapa temprana y 30% de pacientes con AR lo desarrollan en etapa tardía. En la población general la prevalencia de AR es alrededor de 1%, la incidencia en mujeres es mayor entre los 40 a 60 años de edad.¹⁹

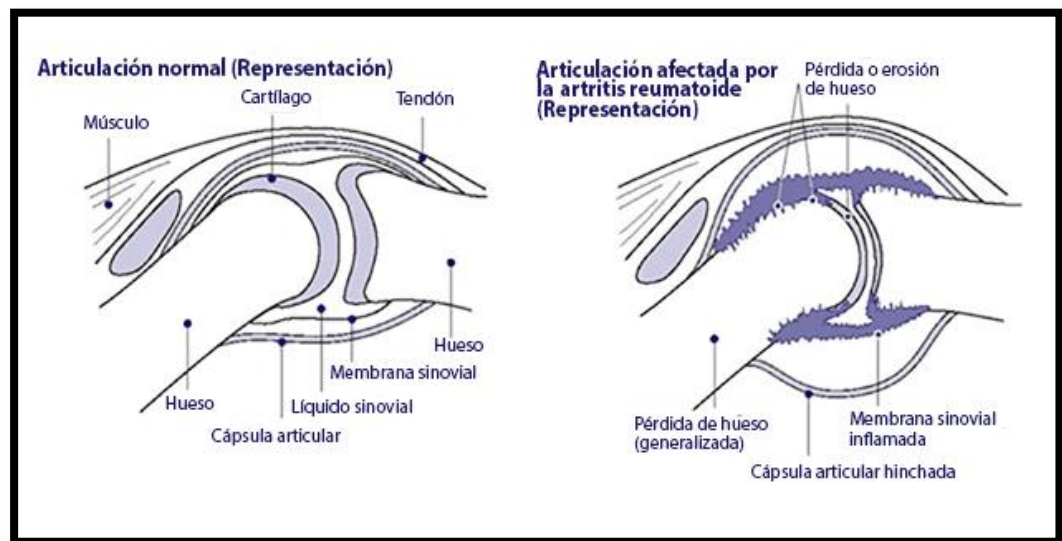


Figura N° 2. Articulación normal y articulación afectada por artritis reumatoide

Fuente: NIH 2019 ²⁰.

2.2.3. Patogénesis de la Artritis Reumatoide

En la patogénesis participan variados tipos celulares que desencadenan en forma progresiva la disfunción de cartílagos y huesos. En estado normal se observa equilibrio entre las interleucinas (IL) inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, TNF alfa y IFNgamma (interferón gamma); y las antiinflamatorias como IL-4, IL-11, IL.13 y antagonistas de IL-1 o TNF alfa. En la AR se pierde este equilibrio y aumenta la acción de las citosinas inflamatorias. Diversas investigaciones afirman que la inflamación crónica es producida por células T activadas que ingresan a la membrana sinovial. La acción de estas moléculas de citosinas provoca sobre los macrófagos producción aumentada de IL-1 y FNT alfa las cuales ejercen acción a nivel local y sistémico, como regular la adhesión de moléculas a células endoteliales como LF-A (antígeno asociado la función leucocitaria tipo 1) e ICAM (molécula de adhesión intercelular tipo 1), lo que favorecen el reclutamiento de otras células al lugar de inflamación.²¹



Figura N° 3. Manos inflamadas en la artritis reumatoide

Fuente. Barberá A, et al. 2004.²¹

2.2.4. Diagnóstico de la Artritis Reumatoide

Para el diagnóstico se consideran las manifestaciones presentes en los pacientes, signos físicos detectados por el médico y resultados de exámenes de laboratorio. Según el Colegio Americano de Reumatología estableció 7 criterios para el diagnóstico de la AR.

1. Artritis de 3 ó más articulaciones
2. Artritis bilateral y simétrica
3. Artritis en las articulaciones de las manos
4. Rigidez matutina de las articulaciones durante más de 1 hora
5. Presencia de nódulos reumatoide
6. Factor reumatoide (FR) positivo
7. Cambios radiológicos típicos

Si diagnostica con AR a un paciente que cumple con 4 ó más de los criterios descritos líneas arriba.



Figura N° 4. Nódulo en codo en paciente con artritis reumatoide

Fuente. Oliva E, et al. 2012.¹⁹

Tabla 1. Parámetros para evaluar la actividad y daño en pacientes con artritis reumatoide

<i>Subjetivos</i>
Grado de dolor de la articulación
Duración de la rigidez matutina
Duración de fatiga
Limitación funcional
<i>Examen médico</i>
Número de articulaciones inflamadas e hinchadas
Problemas mecánicos en la articulación (pérdida de movimiento, inestabilidad, deformación)
Presencia de manifestaciones extraarticulares
<i>Laboratorio</i>
Velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSG)/ niveles de proteína C-reactiva (PCR)
Factor reumatoide
Recuento de células sanguíneas
Niveles de electrolitos
Nivel de creatinina
Niveles de enzimas hepáticas
Análisis del líquido sinovial
<i>Otros</i>
Valoración del estado funcional y de la calidad de vida usando cuestionarios estandarizados
Evaluación global de la actividad de la enfermedad realizada por el médico
Evaluación global de la actividad de la enfermedad realizada por el paciente
<i>Radiográfico</i>
Radiografías de las articulaciones afectadas

Fuente. Martín E, et al. 2003.³

2.2.5. Tratamiento de la Artritis Reumatoide

Para tratar la artritis reumatoide se emplean al inicio fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y los glucocorticoides como alivio sintomático, luego se emplean fármacos antireumáticos para modificar el curso de la enfermedad como Etanercept e Infliximab que actúan a nivel del factor de necrosis tumoral, otro es la Anakinra actúa

como antagonista del receptor de IL-1. Estos últimos fármacos son mejores tolerados y tienen mayor rapidez de acción, sin embargo son de alto costo ³.

Los efectos de la IL-1 se aprecian en la figura 5.

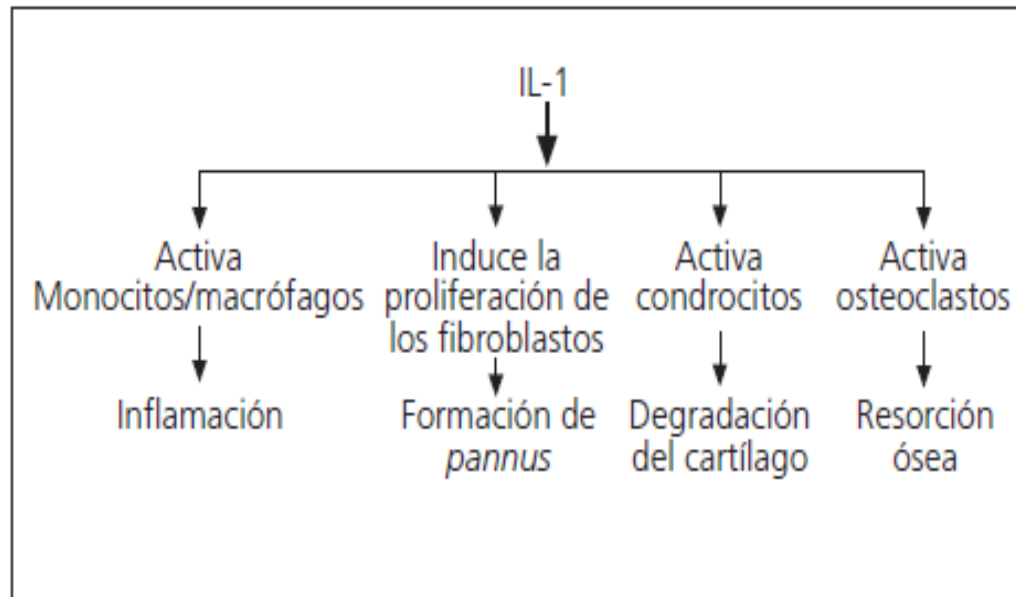


Figura N° 5. Efectos de la interleucina 1 en la artritis reumatoide

Fuente. Martín E, et al. 2003.³

2.2.6. Metotrexato

Es un fármaco que tiene variadas indicaciones terapéuticas como en la terapéutica de cáncer de mama, de cabeza y cuello, leucemia meníngea, cáncer de vejiga, osteosarcoma, en condiciones no cancerosas como artritis reumatoide, artritis psoriásica, micosis fungoide. Durante el tratamiento deben estar bajo supervisión médica por su toxicidad, si el paciente presenta diarrea, depresión de médula ósea, estomatitis ulcerativa o depresión de médula ósea el tratamiento debe interrumpirse. Tiene una biodisponibilidad de 70%, administrado por vía oral alcanzan

picos plasmáticos entre 1 a 5 horas y por vía intramuscular entre 30 a 60 minutos, alcanzan concentraciones máximas en bazo, hígado, riñón, vesícula biliar, piel, atraviesa la barrera hematoencefálica, se une a las proteínas en 50%, se excreta por vía renal entre 40 a 90% en forma inalterada ²².

El mecanismo probable por el cual el metotrexato podría indicarse en la artritis reumatoide, es la disminución de síntesis de citosinas proinflamatorias, como IL-12^a, el INFgamma y aumento de la expresión de genes codificadores de proteínas antiinflamatorias como IL-4 e IL-10, otro mecanismo sería que su efecto antiinflamatorio estaría dado por la capacidad de inhibir al factor nuclear Kappa B (NFκB) que es un agente importante en procesos inflamatorios ²³.

El metotrexato actúa también antagonizando al ácido fólico al reducir los niveles de tetrahidrofolato a nivel celular debido a la inhibición de las enzimas dihidrofolato reductasa y timidilato sintetasa ²⁴.

El metotrexato se emplea con frecuencia en el tratamiento de la artritis reumatoide, a dosis bajas actúa como inmunomodulador en alteraciones autoinmunitarias, debido a su bajo costo, efectividad y esquema sencillo de dosis única semanal, conlleva al ahorro de esteroides, pero a la vez causa reacciones adversas como aparición de mucositis ²⁵.

2.2.6. Alcaloides

Los alcaloides tienen característica básica, su solubilidad depende del pH, es decir si se encuentra en forma de sales o bases. Si se encuentra en forma de base es soluble en solventes orgánicos como éter etílico, benceno, diclorometano, cloroformo acetato de etilo. Si está en forma de sal, es soluble en solventes polares como el agua, soluciones hidroalcohólicas o

ácidas ²⁶. Los alcaloides tienen estructura química muy variada, en la figura 6 se muestra algunos núcleos de alcaloides.

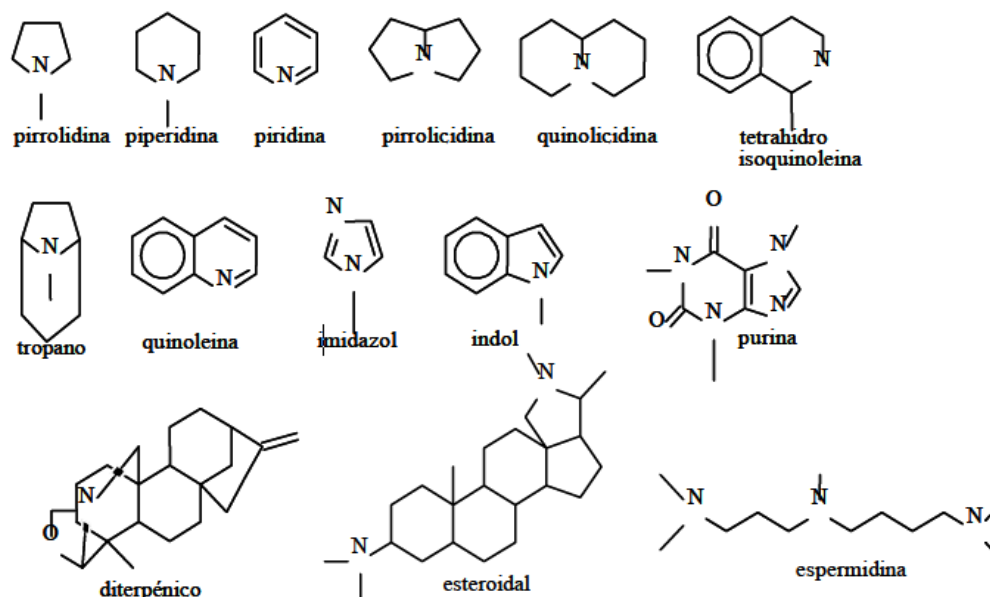


Figura N° 6. Estructura química de algunos alcaloides

Fuente. Arango G. ²⁶.

A los alcaloides se le atribuyen diversas propiedades biológicas, en tabla 2 se muestra propiedades farmacológicas de algunos alcaloides.

Tabla 2. Propiedades farmacológicas de algunos alcaloides

Alcaloide	Actividad farmacológica	Planta de donde se aisló
Anonaína	Antimicrobiano	<i>Annona muricata</i>
Berberina	Antimicrobiano	<i>Coptis japonica</i>
Codeína	Analgésico narcótico, Antitusígeno	<i>Argemone mexicana</i>
Colchicina	Disruptivo muscular	<i>Colchium autumnale</i>
Emetina	Parasitocida	<i>Uragoga ipecacuanha</i>
Liriodenina	Antimicrobiana, Anticancerígeno	<i>Annona diversifolia</i>
Morfina	Analgésico narcótico	<i>Papaver somniferum</i>
Noscapina	Antiespasmódico, Potencial antineoplásico	<i>Papaver somniferum</i>
Papaverina	Vasodilatador	<i>Papaver somniferum</i>
Sanguinarina	Antimicrobiano	<i>Sanguinaria canadensis</i>
(+)-Tubocurarina	Bloqueador muscular	<i>Chondodendron tomentosum</i>
Tetrandrina	Bloqueador de canales de Ca ²⁺	<i>Stephania tetandra</i>

Fuente. De la Cruz I, et al. 2012.²⁷

2.2.7. Compuestos fenólicos

Son un grupo de compuestos químicos presentes en las plantas, forman parte importante de la dieta humana, en su clasificación encontramos a los fenoles, flavonoides y ácidos fenólicos de variadas estructuras químicas y propiedades como antioxidantes, anticancerígenas, problemas cardiovasculares y enfermedades de carácter inflamatorio ²⁸.

Los fenoles se producen por síntesis del *novo* en las plantas y son regulados por genes y factores ambientales, actúan como fitoalexinas, es decir para defenderse de posibles infecciones bacterianas o fúngicas, contribuyen a la pigmentación de diversas partes de la planta. Los compuestos fenólicos son un grupo de compuestos químicos muy grande, muchos aún no han sido identificados, ejercen diversas propiedades biológicas como actividad estrogénica (fitoestrógenos) como los lignanos, isoflavonas, estilveno, resveratrol y otras con propiedades antiartríticas, antibacterianas, entre otros. Se ha descrito que los flavonoles tienen mejor actividad antioxidante. En la tabla 3 se aprecia los beneficios de los compuestos fenólicos en enfermedades cardiovasculares ²⁹.

Tabla 3. Beneficios en enfermedades cardiovasculares de los compuestos fenólicos

Nº	Beneficio
1	Disminución de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)
2	Disminución del proceso inflamatorio en la placa de ateroma
	Inhibición de la agregación plaquetaria
	Estimulación de la síntesis del óxido nítrico
3	Estabilización de las fibras de colágeno de la pared arterial
4	Actuación como fitoestrógenos (isoflavonas y lignanos)

Fuente. Gimeno E. 2004.²⁹

En la figura 7 se aprecia algunos ejemplos de estructuras de compuestos fenólicos.

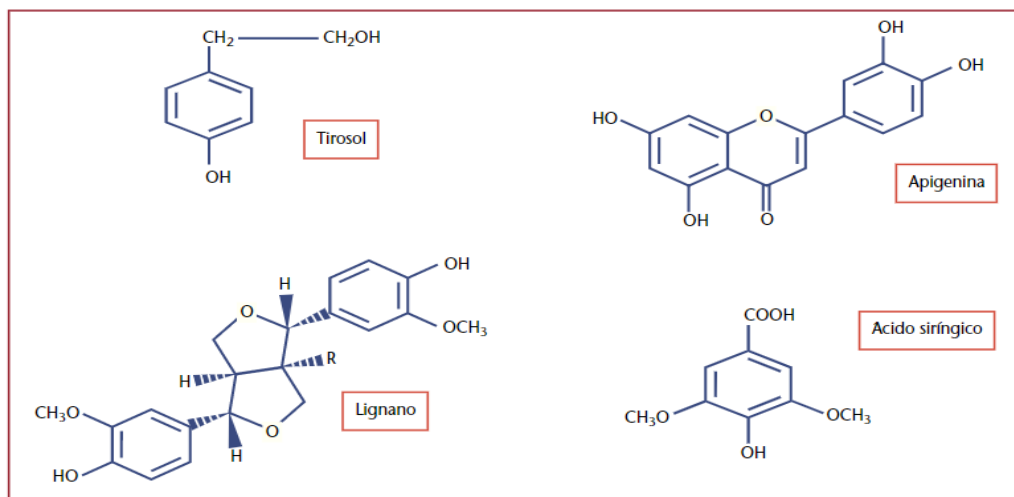


Figura N° 7. Algunos ejemplos de compuestos fenólicos

Fuente. Gimeno E. 2004.²⁹

En la figura 8 se aprecia la estructura química de flavonoles y flavonas

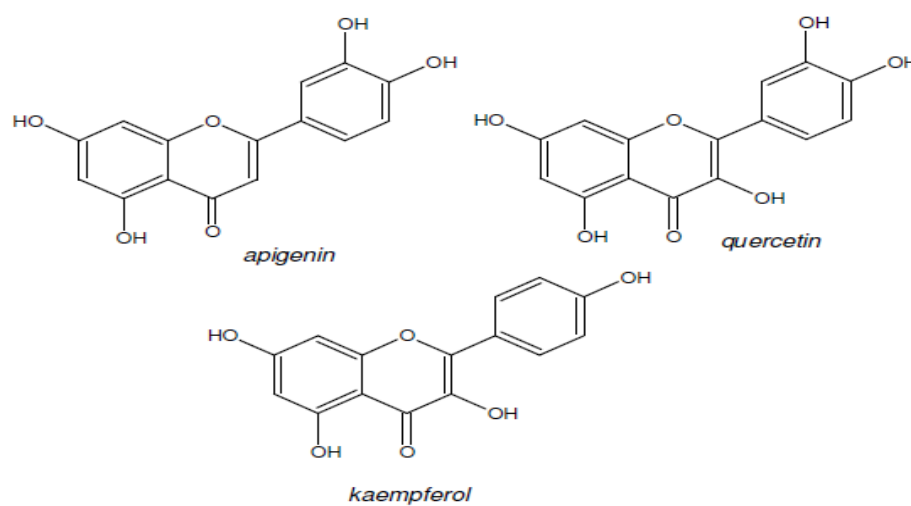


Figura N° 8. Estructura química de flavonoles y flavonas

Fuente. Mauricio T.³⁰

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

- a. El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) tiene efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas

2.3.2. Hipótesis específicas

- a. Los principales metabolitos secundarios presentes en la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) son flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides
- b. La dosis del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) que presenta mayor efecto sobre la artritis a ratas es 1000 mg/kg de peso
- c. El porcentaje de efectividad del efecto sobre la artritis inducida a ratas del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) está entre 30 y 70%

2.4. Variables

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Independiente Extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Brunfelsia grandiflora</i> (Chiric sanango)	Los metabolitos secundarios hallados en extractos de plantas tienen variados efectos biológicos que son aprovechados por la población en general para prevenir o tratar diversas problemas de salud entre ellos efecto sobre la artritis reumatoide	Metabolitos secundarios	flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, azúcares reductores, aminoácidos
Dependiente: Efecto sobre la artritis inducidas a ratas albinas	Los ensayos pre clínicos en animales de laboratorio son bastantes usados en investigaciones médicas para dar sustento científico de una nueva molécula sobre alguna enfermedad específica.	% de efectividad sobre artritis inducidas a ratas.	Score obtenido según su grado de severidad o claudicación.

2.5. Marco conceptual

1. **Citocinas.** Son compuestos proteicos o glucoproteicos sintetizadas por diferentes tipos de células que tienen como función de regular respuestas inmunitarias e inflamatorias.³¹
2. **Artritis.** Es la degeneración o inflamación de una o más articulaciones ³².
3. **Interleucinas.** Conjunto de proteínas que son sintetizadas y expresadas por leucocitos, especialmente por linfocitos LCD4 e histiocitos que actúan como intercomunicador de las subpoblaciones leucocitarias y participan en sistemas inmunitarios.³³
4. **Factor de necrosis tumoral.** Es una proteína sintetizada por los glóbulos blancos como respuesta a un antígeno o algún tipo de infección.³⁴
5. **Ciclooxigenasa-2.** Son enzimas que permiten acelerar la formación de sustancias que causan dolor e inflamación, así también pueden favorecer el crecimiento de células tumorales.³⁴
6. **Antioxidantes.** Toda sustancia que protege a las células de los daños producidos por radicales libres que suelen ser responsables del desarrollo de cáncer, derrame celular y otras relacionadas al envejecimiento.³⁴
7. **Enfermedad crónica.** Es una afección que suele durar tres meses o más y posiblemente empeore con el paso del tiempo, con frecuencia se presentan en adultos mayores, los cuales suelen controlarse, pero no curar.³⁴
8. **Prostaglandina.** Son sustancias similares a las hormonas que el cuerpo elabora, son diversos y controlan la presión arterial, contracción de músculos lisos y otras acciones internas donde se sintetizan.³⁴
9. **Glutación.** Sustancias presentes en los tejidos, activan ciertas enzimas y destruyen compuestos tóxicos y sustancias químicas que contienen oxígeno.³⁴

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

El estudio fue de tipo experimental, prospectivo, longitudinal

- a. Experimental: Porque se trabajó con grupos controles, control positivo y control negativo, se manipuló la variable independiente, la muestra se seleccionó por tipo probabilístico
- b. Prospectivo: Porque los ensayos se realizaron del presente al futuro
- c. Longitudinal: Porque se realizó 4 medidas a lo largo del experimento cada 7 días hasta los 21 días.

3.2. Diseño a utilizar

3.2.1. Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* “Chiric sanango” (CYTED 1995 ³⁵)

La corteza de Chiric sanango fueron recolectadas en Contamana, provincia de Ucayali, departamento de Loreto ubicado a 134 msnm. Se recolectó 1 Kg de corteza, luego se trasladó al laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Peruana Cayetana Heredia. A continuación se realizó la limpieza, selección y desinfección, se colocó a la estufa a 40 °C para el proceso de secado, seguido se pulverizó y pesó 200g de polvo de corteza, el cual se maceró en 1 L de etanol 70 % en frasco color ámbar con tapa hermética por 10 días, cada día se agitó dos veces cada 12 horas, luego se filtró, primero con gasa estéril luego con papel de filtro, el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta que se obtuvo un extracto seco, seguido se pesó y acondicionó en frasco color ámbar, el mismo que se colocó a refrigeración hasta posterior uso.

3.2.2. Prueba de solubilidad y marcha fitoquímica (Lock O. ³⁶ 2016)

a) Prueba de Solubilidad

El extracto seco de corteza de Chiric sanango se colocó, aproximadamente 5 mg en el fondo del tubo de ensayo, luego se adicionó 1 ml de los siguientes solventes:

Agua, etanol, metanol, n-butanol, acetato de etilo, cloroformo, benceno

b) Marcha Fitoquímica

Se pesó aproximadamente 40 mg de extracto seco de corteza de Chiric sanango, se solubilizó en agua destilada, luego se colocó 1 ml de esta solución en diferentes tubos de ensayo, seguido se adicionó V gotas de los reactivos siguientes:

Wagner, Mayer, Dragendorf	Alcaloides
Tricloruro de aluminio, shinoda	Flavonoides
Tricloruro férrico 1 %	Compuestos fenólicos y/o taninos
Gelatina 1 % en NaCl	Taninos
Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides
Fehling A y Fehling B	Azúcares reductores
Ninhidrina	Grupo amino libre
Molisch	Glicósidos

3.2.3. Ensayo de toxicidad aguda (DL₅₀) (Método OCDE Test 423 ³⁷)

Se usaron ratas albinas machos cepa Holtzman de 8 a 10 semanas de edad con peso promedio de 220 a 240 g provenientes de las instalaciones del bioterio ubicado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, antes del experimento los animales fueron aclimatados durante 5 días. Las ratas fueron divididas en tres grupos de tres ratas cada uno.

La administración del extracto fue por vía oral mediante el uso de una sonda nasogástrica a dos grupos de 2000 mg/kg, al otro grupo se administró agua destilada 5 mL/kg.

Se realizaron observaciones diarias durante 14 días en busca de signos o síntomas de toxicidad, efectos adversos y mortalidad con especial atención durante las primeras 72 horas. Las variables observadas fueron: conductas

anormales (alteración en la actividad motriz, postración, depresión, irritabilidad); signos de toxicidad (salivación, convulsiones, piloerección, disnea, diarrea, entre otros). Se realizaron registros de peso corporal a los animales de experimentación, para evaluar si existe alteración de aumento o pérdida.

Tabla 4. Diseño experimental del ensayo de toxicidad aguda (DL₅₀)

Tratamiento	Dosis	Nº de animales
Chiric sanango	2000 mg/kg	3
Chiric sanango	5000 mg/kg	3
Agua destilada	5 mL/kg	3
Total		9

3.2.4. Evaluación de la actividad sobre la artritis reumatoide (Método Schett G, et al. 2005 ³⁸)

Se usaron 30 ratas albinas machos cepa Holtzman de 8 a 10 semanas de edad con peso promedio de 220 a 240 g provenientes de las instalaciones del bioterio ubicado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, antes del experimento los animales fueron aclimatados durante 5 días. Las condiciones experimentales fueron temperatura promedio 23 °C, humedad menor o igual a 70%, 12 horas luz y 12 horas oscuridad, el consumo de agua y alimento fue a voluntad.

Las ratas fueron divididas al azar (n=5) de la siguiente forma:

- G1: Extracto de Chiric sanango 250 mg/kg + inducción de artritis
- G2: Extracto de Chiric sanango 500 mg/kg + inducción de artritis
- G3: Extracto de Chiric sanango 1000 mg/kg + inducción de artritis
- G4: Metotrexato 0.2 mg/kg + Inducción de artritis
- G5: Inducción de artritis

- G6: Agua destilada 5 mL/kg

La inducción de artritis se realizó por el método de adyuvante completo de Freund vía intraarticular, donde se administró 0.1 mL del adyuvante en la base de la cola. Esta inducción se dio en una fase temprana, a los 7 días post administración en donde se observaron los efectos de artritis reumatoide.

Al octavo día se inició con administración de los tratamientos de los diferentes grupos durante 21 días.

Durante el ensayo se realizó seguimiento usando un registro de score de claudicación y de inflamación con valores definidos entre 0 y 4, para evaluar el grado de gravedad de la claudicación y el daño generado por la artritis reumatoide experimental en los animales.

Tabla 5. Grado de gravedad de claudicación e inflamación según valores de score

Score de claudicación e inflamación	Interpretación
0	Ausencia. No presenta nada (hinchazón o enrojecimiento en la piel)
1	Apenas perceptible. Hinchazón o inflamación de un dedo de la articulación
2	Moderada. Hinchazón de dos articulaciones, dos dedos
3	Muy marcada en la que en ocasiones el animal sustrae el apoyo al miembro. Hinchazón en más de dos articulaciones
4	Sustracción al apoyo la mayor parte del tiempo .Artritis severa en la pata completa

El extracto de Chiric sanango se administró vía oral una vez al día durante 21 días, el metotrexato se administró dos veces por semana durante el tiempo del ensayo, el grupo inducido sin tratamiento no recibió tratamiento alguno. Las observaciones de los síntomas se realizaron en forma diaria.

3.2.5. Materiales, equipos y reactivos

a. Materiales

Beacker de vidrio 250 mL
Algodón CKF 500 g
Gasa Médica 10 x 10 cm
Papel de filtro whatman N° 40
Varilla de vidrio
Gotero de plástico
Frasco de vidrio color ámbar de 2 L
Fuente de vidrio Pyrex
Guantes de látex descartable
Mascarilla descartable
Gorro descartable
Pipeta de vidrio 1 ml , 5 mL
Propipeta
Mortero y pilón de porcelana
Espátula de metal
Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 ml
Probeta de 100 ml
Cocinilla eléctrica
Sonda nasogástrica para ratas
Jaula de metal para ratas
Jeringa de insulina graduada 1 ml Terumo

b. Equipos

Balanza analítica
Balanza triple brazo
Estufa marca Memmert
Campana extractora

c. Reactivo

Acetato de etilo
Agua destilada

Benceno
Cloroformo
Etanol
n-butanol
n-hexano
Metanol
Mayer
Draguendorff
Tricloruro férrico
Gelatina 1% en NaCl
Fehling A y Fehling B
Tricloruro de aluminio
Shinoda
Ninhidrina
Liebermann – Burchard
Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* “Chiric sanango”
Metotrexato
Adyuvante completo de Freund

3.3. Población

La población fue conformada por ratas cepa Holtzman obtenida del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

3.4. Muestra

La muestra estuvo conformada por 9 ratas machos para el ensayo de toxicidad aguda y 30 ratas machos cepa Holtzman para el ensayo sobre la artritis reumatoide dividido al azar en 6 grupos, cada grupo recibió un tratamiento diferente.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada fue la observación de cada muestra en estudio

Los instrumentos fueron elaborados ad hoc, los datos se recolectaron en forma manual e individual de cada animal, así mismo el registro de datos fue manual.

3.6. Procesamiento de datos

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS versión 20. Se realizó el análisis ANOVA, las diferencias estadísticas fueron calculados por el test de Tukey, se estableció la significancia del 95% ($p < 0.05$). Los datos se presentan en tablas y gráficas.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Prueba de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) mostró ser en agua y etanol muy soluble, en metanol soluble, insoluble en cloroformo, acetona, hexano y éter de petróleo tal como se aprecia en la tabla 6.

Tabla 6. Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Solvente	Solubilidad
1. Agua	+++
2. Etanol	+++
3. Metanol	++
4. Cloroformo	-
5. Acetona	-
6. Hexano	-
7. Éter de petróleo	-
Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++), Poco soluble (+), Insoluble (-)	

Fuente: Elaboración propia

4.1.2. Marcha fitoquímica

En la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) evidenció la presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólico, alcaloides, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, como se observa en la tabla 7.

Tabla 7. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Wagner	Alcaloides	+
2. Popoff	Alcaloides	-
3. Mayer	Alcaloide	+
4. Dragendorff	Alcaloide	+
5. Shinoda	Flavonoides	+
6. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
7. Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	+
8. Ninhidrina	Aminoácidos libres	-
9. Fehling A y B	Azúcares reductores	-
10. Gelatina + NaCl	Taninos	-
11. Molisch	Glicósidos	-
Leyenda: Presencia (+) Ausencia (-)		

Fuente: Elaboración propia

4.1.3. Resultados del ensayo de toxicidad aguda de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) y el control no produjeron mortalidad en la dosis administrada una repetición durante los 14 días de evaluación. La dosis letal media (DL₅₀) fue superior a 5000 mg/Kg de peso corporal como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados del ensayo de toxicidad aguda

Tratamiento	Dosis	Nº de animales	Mortalidad
Chiric sanango	2000 mg/kg	3	0/3
Chiric sanango	5000 mg/kg	3	0/3
Agua destilada	5 mL/kg	3	0/3
Total		9	0/9

Fuente. Elaboración propia

4.1.3. Resultados del ensayo de la actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

En la tabla 9 se aprecia los resultados sobre la artritis reumatoide, los tres niveles de dosis presentan actividad antiartrítica y son significantes comparados con el grupo control ($p < 0.05$). Los animales recuperaron su movilidad ante la claudicación y disminuyó la inflamación con respuesta dosis – efecto, es decir dosis dependiente.

En la figura 9 se aprecia que el mejor efecto del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) fue con la dosis de 1000 mg/kg de peso, seguido de la dosis de 500 mg/kg y 250 mg/kg respectivamente, es decir el efecto depende de la dosis ($p < 0.05$). De todos los grupos de tratamiento el metotrexato mostró tener mejor efecto sobre la artritis inducida a ratas ($p < 0.05$)

En la figura 10 se aprecia el porcentaje de actividad, la mayor actividad evidenciada fue para el grupo de metotrexato (90%), seguido del grupo de la dosis del extracto de 1000 mg/kg (70%), 500 mg/kg (55%) y 250 mg/kg (35%).

Tabla 9. Valores medios de Score de la actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Grupo	N	Score clínico \pm D.E				% actividad	Significancia
		0 días	7 días	14 días	21 días		
Agua destilada	5	0	0	0	0	0	---
Inducción de artritis sin tratamiento	5	0	4	4	4	0	---
Metotrexato 0.2 mg/kg	5	0	4	1.4 ± 0.55	0.4 ± 0.55	90	$p < 0.05 *$
Chiric sanango 250 mg/kg	5	0	4	3.2 ± 0.45	2.6 ± 0.55	35	$p < 0.05 *$
Chiric sanango 500 mg/kg	5	0	4	2.8 ± 0.45	1.8 ± 0.45	55	$p < 0.05 *$
Chiric sanango 1000 mg/kg	5	0	4	2.2 ± 0.45	1.2 ± 0.45	70	$p < 0.05 *$

N = Número de animales por grupo D.E = Desviación estándar

Datos estadísticos tabla 9.

TRATAMIENTO A LOS 21 DIAS						
	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	Control	Inducidas S/T	Metotrexate (0.2 mg/Kg)
	3	2	1	0	4	1
	2	2	1	0	4	1
	2	2	2	0	4	0
	3	1	1	0	4	0
	3	2	1	0	4	0
Promedio	2.60	1.80	1.20	0.00	4.00	0.40
Ds	0.55	0.45	0.45	0.00	0.00	0.55

Fuente. Elaboración propia

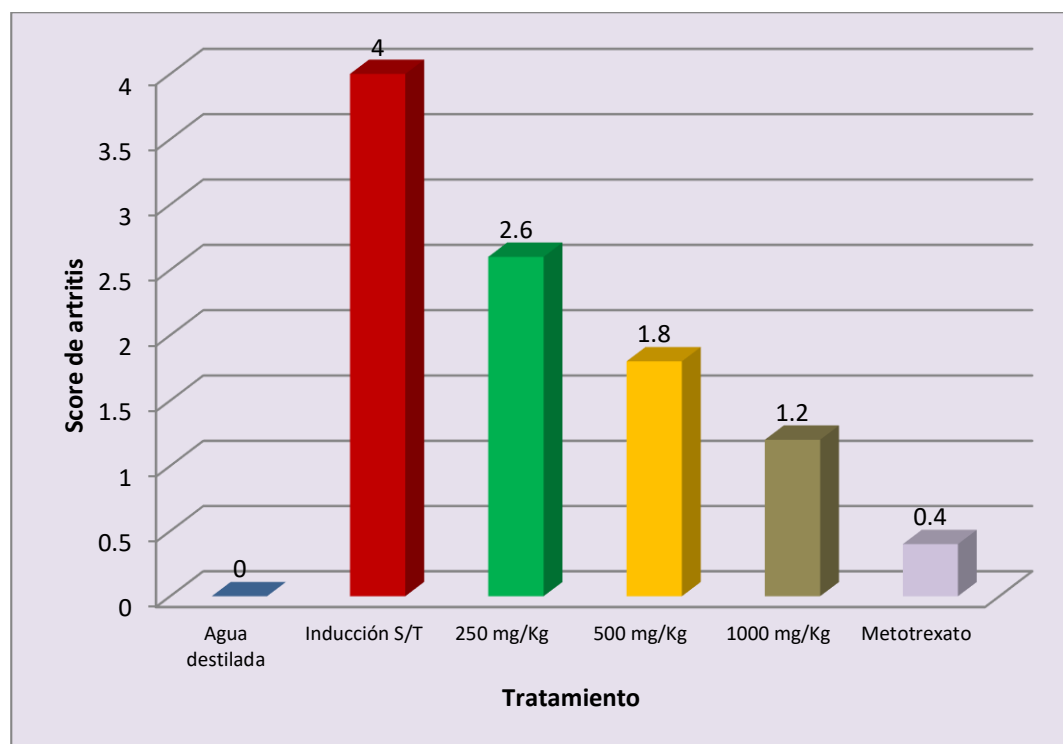


Figura N° 9. Valores de score según grupos de tratamiento de la corteza de de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Fuente. Elaboración propia

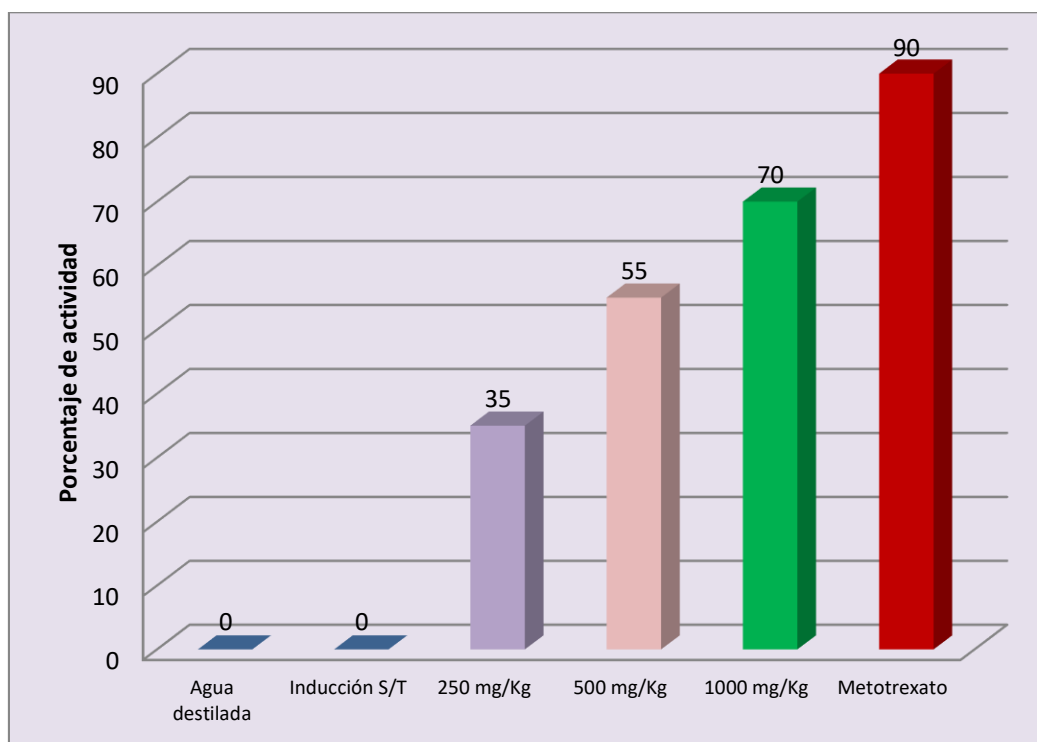


Figura N° 10. Porcentaje de actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Fuente. Elaboración propia

S/T = Sin tratamiento

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. Hipótesis del estudio

El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) tiene efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas

4.2.2. Hipótesis estadística

a. Variable dependiente

Efecto sobre la artritis

Tipo de variable : Cuantitativo

Estadístico : Promedio

Conclusión : Comparación de promedios

b. Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora*
(Chiric sanango)

Grupos 1 – 3 : 1 grupos controles (negativo y positivo)

Grupos 4 – 6 : Grupos con dosis diferentes de Chiric sanango

Conclusión : Comparación de promedios

4.2.3. Verificación de hipótesis

u_1 = Porcentaje de actividad sobre la artritis en los grupos controles

u_2 = Porcentaje de actividad sobre la artritis en los grupos tratados con
Chiric sanango

4.2.4. Prueba estadística

Se realizó análisis de varianza (ANOVA), la prueba de Duncan para observar si existen diferencias estadísticas

4.2.5. Análisis de datos

La significancia establecida fue de 95% ($p < 0.05$), se empleó el paquete estadístico SPSS versión 20, los resultados se expresaron en puntajes score de artritis, porcentaje de actividad sobre la artritis inducida a ratas.

Tabla 10. Análisis ANOVA según grupos de tratamiento de la actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 días	Inter-grupos	.000	5	.000	.	.
	Intra-grupos	.000	24	.000		
	Total	.000	29			
7 días	Inter-grupos	66.667	5	13.333	.	.
	Intra-grupos	.000	24	.000		
	Total	66.667	29			
14 días	Inter-grupos	50.267	5	10.053	67.022	.000
	Intra-grupos	3.600	24	.150		
	Total	53.867	29			
21 días	Inter-grupos	54.667	5	10.933	65.600	.000
	Intra-grupos	4.000	24	.167		
	Total	58.667	29			

gl=Grados de libertad; Sig=Nivel de significancia del estadístico F

En la tabla 10 se observa que, el estadístico F representa el cociente de la variación de promedios inter grupos e intra grupos las cuales se relaciona con los grados de libertad, y se acompaña con el nivel de significancia. La significancia en nuestro caso fue menor a 0.05, lo que significa que existe diferencia significativa en los grupos de tratamiento.

En la tabla 11 se observa que los grupos de tratamiento de Chiric sanango 1000 mg/kg y 500 mg/kg tiene efectos estadísticamente similares, el grupo de Metotrexato mostró mejor resultado sobre la artritis. Se aprecia que el efecto aumenta cuando aumenta la dosis del extracto.

En la tabla 12 se aprecia que el grupo de Chiric sanango 1000 mg/kg tiene efecto estadísticamente significativo comparado con los otros grupos ($p < 0.05$), excepto con el grupo de dosis de Chiric sanango 500 mg/kg ($p > 0.05$).

Por tanto, se acepta la hipótesis que el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango tiene efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas.

Tabla 11. Análisis de Tukey según grupos de tratamiento de la actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

21 días							
	Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey	Control agua destilada	5	.00				
	Metotrexato 0,2 mg/kg	5	.40				
	Chiric sanango 1000 mg/kg	5		1.20			
	Chiric sanango 500 mg/kg	5		1.80			
	Chiric sanango 250 mg/kg	5			2.60		
	Inducción de artritis sin tratamiento	5				4.00	
	Sig.		.638	.223	1.000	1.000	

Tabla 12. Análisis de Dunnett según grupos de tratamiento de la actividad sobre la artritis reumatoide de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango)

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
t de Dunnett	Control agua destilada	Chiric sanango 1000 mg/kg	-1.200	.258	.000	-1.90	-.50
	Inducción de artritis sin tratamiento	Chiric sanango 1000 mg/kg	2.800	.258	.000	2.10	3.50
	Metotrexato 0,2 mg/Kg	Chiric sanango 1000 mg/kg	-.800	.258	.020	-1.50	-.10
	Chiric sanango 250 mg/Kg	Chiric sanango 1000 mg/kg	1.400	.258	.000	.70	2.10
	Chiric sanango 500 mg/Kg	Chiric sanango 1000 mg/kg	.600	.258	.108	-.10	1.30

4.3. Discusión

El tratamiento y patogenia de la artritis reumatoide (AR) en los últimos 25 años ha experimentado importantes avances. El empleo de técnicas a nivel molecular ha ayudado, sin lugar a duda, en este avance, así también no es casual que el inicio de este período tenga coincidencia con el aumento en el uso de modelos experimentales en animales, como la inducción de artritis con antígeno (AIA), o en especial el descubrimiento del modelo de inducción de artritis por colágeno tipo II (CIA) y Adyuvante de Freund.³⁹ Debido a que los modelos animales sólo mimetizan diferentes aspectos de la Artritis Reumatoide, el mejor uso de estos modelos es cuando se tiene claro el objetivo del experimento, se selecciona el modelo más adecuado, se entiende el mecanismo de acción terapéutica e interpreta la respuesta basado en el conocimiento del mecanismo del estudio en la artritis reumatoidea.³⁹

Los productos naturales son históricamente invaluable como fuente de uso en la terapéutica. Esto ha llevado al desarrollo de nuevas sustancias terapéuticas a partir de productos naturales o plantas medicinales tradicionales debido a su mayor rango de seguridad. Se ha encontrado que Chiric sanango, conocida en la Amazonia, por sus efectos, analgésicos, antiinflamatorios y para la artritis.⁴⁰ Es por ello a raíz de la variedad de plantas medicinales que tiene la amazonia, Castro A. opta por trabajar la corteza en la cual según curanderos nativos han identificado mayor efecto en sus macerados, por ello trabaja con extracto metanólico para luego mediante cromatografía de gases y espectrometría de gases a la vez que su tamizaje fitoquímico se demuestra que el Chiric sanango tiene una gamma variada de metabolitos secundarios como alcaloides y flavonoides en su mayoría. La artritis reumatoide inducida por adyuvantes (AA) en ratas está bien establecida como un modelo animal que comparte algunas características con la AR humana, incluyendo: hinchazón articular, dolor, degradación del cartílago y pérdida de la articulación. Una de las características más importantes de la AA es la sinovitis crónica, incluyendo células inflamatorias, Infiltración e hiperplasia sinovial.⁴¹ Es por ello que Simone E propone en su trabajo de

investigación que el mejor modelo para un estudio de artritis inducida es la AA aplicándose para nuestro trabajo, viendo el resultado de inducción rápida y de manera progresiva. Por lo tanto, las ratas inducidas con AA se han utilizado con frecuencia para estimar posibles terapias con agentes en el tratamiento de la AR.⁴² En este estudio, la hinchazón de la pata y las puntuaciones artríticas son índices de medición, así como los estados de claudicación que se dan en el movimiento de los animales al desplazarse y donde se observan alteraciones motoras producto del daño producido. En este caso se tuvo una respuesta con los tratamientos de Chiric sanango en las tres concentraciones evaluadas: 250, 500 y 1000 mg/kg de peso corporal comparadas con el fármaco Metrotexato y todas dando resultados significativos con respecto al grupo al cual se le indujo y no recibió tratamiento alguno. Esto nos lleva a resultados comparables en contexto con el trabajo de Flores D. pues expone sus resultados con respecto al efecto antiinflamatorio que posee *Zea mays L.* que en una artritis es el signo más pronunciado que lograron significativamente reducir después de su inducción y posterior tratamiento. Nuestros resultados apoyan el trabajo realizado dentro del mismo marco, incluso en las mismas dosis de aplicación y días de tratamiento, por lo tanto, se concluye que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) evidenció tener efecto positivo sobre la artritis inducida a ratas albinas.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) evidenció tener efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas
2. Los principales grupos de metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) fueron alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenoides.
3. La dosis del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) que mostró mayor efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas fue 1000 mg/kg, seguido de la dosis de 500 mg/kg y 250 mg/kg, efecto fue dosis dependiente.
4. El porcentaje de inhibición del efecto sobre la artritis inducida a ratas albinas del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric sanango) fue de 70% (1000 mg/kg), 55% (500 mg/kg) y 35% (250 mg/kg).

5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad sub aguda y crónico para evidenciar posibles efectos secundarios en diversos órganos y tejidos.
2. Realizar estudio de evaluación de indicadores bioquímicos antioxidantes como glutatión, superóxido dismutasa y otros como efecto sobre indicadores de interleucinas, prostaglandinas y otros mediadores de la inflamación
3. Realizar estudios farmacodinámicos a nivel celular y molecular para evaluar el probable mecanismo de acción de la corteza de chiric sanango

REFERENCIAS

1. Romero M, Stajnsznajder P, Cassan A, Ignacio A. Artritis reumatoide. Letramédica SCP. 2010. En línea. Fecha de acceso 16 febrero 2019. URL disponible en: http://www.conartritis.org/wp-content/uploads/2012/05/informacion_actualizada_pacientes_familiares.pdf
2. Fernández L, Vásquez J, Luis J, Liso J, Fruns I, Moreno P. Calidad de vida en pacientes con artritis reumatoide en tratamiento ambulatorio con anti-TNF. Farm Hosp. 2008; 32(3): 178-81
3. Sánchez F, Martín E, Gómez J, Cantero S. Nuevas perspectivas en el tratamiento de la artritis reumatoide. Farm Hosp. 2003; 27(6): 36-46
4. Escalona L, Tase A, Estrada A, Almaguer M. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba, Guisa, Granma. Revista cubana de Plantas Medicinales. 2015; 20(4): 429-439
5. Ramos N. Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de Brunfelsia grandiflora D. Don "chiric sanango". Tesis para optar el grado de Doctor en farmacia y Bioquímica. UNMSM. 2012
6. Chico A, Carballar L, Estévez M, Barcía C, Pernas A. Factores que influyen en el bienestar psicológico de pacientes con artritis reumatoide. Revista Cubana de Medicina. 2015; 51(1): 48-60
7. Little C, Parsons T. Tratamiento a base de hierbas para la artritis reumatoide. Cochrane Plus. En línea. Fecha de acceso 09 marzo 2019. URL disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/tratamiento_a_base_de_hierbas_para_la_artritis_reumatoide.pdf
8. Rengifo E. Legislación de fitofármacos en el Perú. Regulation of Phytomedicine II. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8(1): 58-62
9. Ministerio de Salud (MINSA - DIGEMID). Artritis reumatoide. En línea. Fecha de acceso 09 marzo 2019. URL disponible en: http://repositorio.minsa.gob.pe:8080/jspui/bitstream/MINSA/79325/1/30_INFO_RME_LEFLUNOMIDA.pdf

10. OPS. Importancia de la medicina tradicional para avanzar hacia la salud universal. En línea. Fecha de acceso 09 marzo 2019. URL disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=14382:paho-reaffirms-the-importance-of-traditional-medicine-to-advance-towards-universal-health&Itemid=39594&lang=es
11. Flores D, Villalobos E, Rojo A, Palomino M, Martín Y. Protección osteoarticular de *Zea maíz L.* variedad morada (maíz morado) en artritis experimental en ratas. Peruvian Journal of Experimental Medicine and Public Health. 2018; 35(3). En línea. Fecha de acceso 09 marzo 2019. URL disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3454/3122>
12. Castro A, Juárez J, Ramos N, Raez J, Retuerto F, Gonzáles S. Análisis estructural del extracto etanólico del tallo de *Brunfelsia grandiflora* D. Don y su efecto neuropatológico en el cerebelo de rata. Ciencia e Investigación. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. 2012; 15(2): 71-77
13. Campos K. Evaluación biológica de la actividad y del efecto antiinflamatorio sobre la artritis reumatoide inducida por colágeno tipo II en el modelo animal ratas de la cepa Lewis (MCH haplotipo RT1) del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2018
14. Núñez Y, Tillán J, Vega Y, Carrillo C, Olivares O, Núñez R. Efecto del MVZ sobre la artritis inducida por adyuvante completo de Freund y ensayo de tolerancia. Rev Cubana Plant Med. 2005; 10(1)
15. De Simone E, Lastra Y, Caggiano N, Díaz J, Rubatino F, Ferretto A, De Luca V, Gullace F, Ritacco E, Chiappe A. Estudio comparativo de la fase temprana de artritis experimental en 3 modelos de ratas. Rev Colomb Reumatol. 2017; 24(2): 92-101
16. Sousa C, Martins M, Ribeiro A, Bonetti B, Riet F, Parpetua V, Soto b, Medeiros S. Different leaf extracts from *Brunfelsia uniflora* in mice. Ciencia Rural. 2017; 48(1): 1-8
17. MINSA. Instituto Nacional de Salud. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. En línea. Fecha de acceso 09 marzo 2019. URL disponible en:

https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf

18. MedlinePlus. Artritis reumatoide. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/rheumatoidarthritis.html>
19. Oliva E, Martínez M, Zapata M, Sánchez S. Artritis Reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia y antígenos relevantes para su diagnóstico. MedPub Journals. 2012; 8(13): 1-7
20. NIH (Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Musculoesqueléticas y de la Piel. Artritis. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <https://www.niams.nih.gov/es/informacion-de-salud/artritis>
21. Barberá A, Domínguez M. Características e inmunopatogénesis de la artritis reumatoide. Estado actual en el tratamiento. Biotecnología aplicada. 2004; 21(4): 189-201
22. MINSA – DIGEMID. Centro de atención Farmacéutica. Metotrexato. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Metotrexato.pdf>
23. Goicoechea C. Farmacología del metotrexato. Reumatol Clin Supl. Elsevier. 2016; 11(1): 3-7
24. Pérez J, Padilla J. Intoxicación por metotrexato en una paciente con artritis reumatoide. A propósito de un caso. Archivos de Medicina de Urgencias de México. 2012; 4(3): 125-130
25. Esquivel L, Fernández L, Sánchez Y, Domínguez J, Méndez S. Lesiones de la mucosa bucal por administración de metotrexato en pacientes con artritis reumatoide. Dermatol Rev Mex. 2017; 61(6): 492-499
26. Arango G. Alcaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. 2008
27. De la Cruz I, González A, Riley C. Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. Universitas Scientiarum. 2012; 17(2): 189-202
28. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Universidad de las Américas. México. 2009; 1(1): 121-134

29. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Offarm. Elsevier. 2004; 23(6): 9-155. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
30. Mauricio T, Mollinedo P, Peñarrieta J, Bravo J. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química. 2014; 31(2): 68-81
31. Filella X, Molina R, Ballestas A. Estructura y función de las citosinas. Med Integral. Elsevier. 2002; 39(2): 47-88
32. MedlinePlus. Artritis. En línea, Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001243.htm>
33. Química.ES. Interleucinas. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <http://www.quimica.es/enciclopedia/Interleucina.html>
34. NIH. Instituto Nacional del Cáncer. Diccionario de cáncer. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/factor-de-necrosis-tumoral>
35. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas. Manual de técnicas de investigación; 1995
36. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos para el estudio de productos naturales. 3^{era} ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016
37. OCDE. Prueba N° 423. Toxicidad oral aguda – Procedimiento de dosis fija. En línea. Fecha de acceso 10 marzo 2019. URL disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788?page=2
38. Schett G, Bolon B, et al. Analysis of the Kinetics of Osteoclastogenesis in Arthritic Rats. Arthritis C. Rheumatism. 2005; 52(10): 3192-3201
39. Guma M. Modelos animales en la artritis reumatoide. Laboratory of Gene Regulation and Signal Transduction, Department of Pharmacology, School of Medicine, University of California, San Diego. USA.

40. Dominguez C. Ethnobotanicas de plantas utilizadas en dos centros de medicina tradicional amazónica en el departamento de San Martín. Fecha de acceso 10 marzo 2019 URL disponible en: https://www.takiwasi.com/docs/arti_esp/etnobotanica-plantas-medicinales.pdf
41. Ashraf S, Mapp P, Walsh D. Angiogenesis and the persistence of inflammation in a rat model of proliferative synovitis. *Arthritis Rheumatol.* 2010; 62(1): 1890-1898
42. Asquith D, Miller A, McInnes B, Liew F. Animal models of rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* 2009. 39(1): 2040-2044
43. Xiao S, Yong Z, Jia L, Ce Tang, Yi Zhang, Xian-li M. The anti-arthritic activity of total glycosides from *Pterocephalus hookeri*, a traditional Tibetan herbal medicine. *Pharmaceutical Biology.* 2016.

ANEXO 1. Matriz de consistencia

<p>porcentaje de efectividad del efecto sobre la artritis inducidas a ratas albinas del extracto hidroalcohólico de la corteza de Brunfelsia grandiflora (Chiric sanango)?</p>	<p>grandiflora (Chiric sanango) que presentará mayor efecto sobre la artritis inducidas a ratas albinas.</p> <p>3. Determinar el porcentaje de efectividad del efecto sobre la artritis inducidas a ratas albinas de la corteza de Brunfelsia grandiflora (Chiric sanango)</p>	<p>mayor efecto sobre la artritis a ratas es 1000 mg/Kg de peso</p> <p>3.El porcentaje de efectividad del efecto sobre la artritis inducida a ratas del extracto hidroalcohólico de la corteza de Brunfelsia grandiflora (Chiric sanango) está entre 30 y 70%</p>				
	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Diseño: Experimental</p> <p>Tipo de estudio: Aplicado</p>	<p>Población: Ratas machos albinos cepa Holtzman con peso promedio 220 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud</p> <p>Muestras: 30 ratas con inducción a artritis</p>	<p>Técnica: Observación</p> <p>Instrumento: Ficha de observación</p>	<p>Diseño de Investigación: Experimental, prospectivo, longitudinal</p>		

Anexo 2. Clasificación taxonómica de Chiric sanango



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 135-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Eduardo Bremi QUICO PACHECO**; estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica ha sido estudiada y clasificada como: ***Brunfelsia grandiflora D. Don*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Brunfelsia*

ESPECIE: *Brunfelsia grandiflora D. Don*

Nombre Vulgar: "Chiric sanango"

Determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 09 de mayo de 2019



Mag. **ASUNCION A. CANO ECHEVARRIA**
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Anexo 3. Certificado sanitario de las ratas albinas



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CERTIFICADO

Lima, 11 de octubre del 2018

Mediante la presente se certifica que las 39 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 230 g, adquiridos el 10 de octubre del 2018 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en óptimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,


Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Bioterio
LID - UPCH
C.M.V. 0000

Anexo 4. Constancia de practica



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Servicio de Control de Calidad

Lima, 15 de Octubre del 2018

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

S.D.

Mediante la presente se pone en conocimiento lo siguiente:

El Bachiller **Sr. Quico Pacheco, Eduardo Bremi**, egresado de la facultad de ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la prestigiosa Universidad Inca Garcilaso de la Vega; están haciendo su tesis de Investigación en "Efecto del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* (Chiric Sanango) sobre la Artritis inducida a ratas albinas" en los laboratorios de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,

Q.F. ERIK OLIVAR GALLEGOS
Coordinador de Aseguramiento de la Calidad

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN
INVESTIGACIÓN

Anexo 5. Validación de instrumentos

Anexo 4. Validación de instrumentos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Nº:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION - MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brunfelsia grandiflora* D. Don (CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

Es valiosa su opinión referente a lo siguiente:

Nº	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE					
		<50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?						X
2	¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?						+
3	¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?						X
4	¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?						+
5	¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?						+
6	¿Qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?						+


SUGERENCIAS:

.....
.....
.....

Fecha: 21/04/2019

Validado por:

José Fernando Salcedo Carril

Firma: 

Anexo 5. Validación de instrumentos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Nº:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACIÓN - MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brunfelsia grandiflora* D. Don(CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

Es valiosa su opinión referente a lo siguiente:

Nº	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE					
		<50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?						X
2	¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?						X
3	¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?						X
4	¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?						X
5	¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?						X
6	¿Qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?						X

SUGERENCIAS:

.....
.....
.....

Fecha: 11 - 06 - 19

Validado por:

Firma:

Mg. Q.F. Tox. Henry Montellanos Cabrera
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. 7970 R.N.E. 036
O.N.I. 25796367

Anexo 5. Validación de instrumentos



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

Nº:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION - MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brunfelsia grandiflora* D. Don(CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

Es valiosa su opinión referente a lo siguiente:

Nº	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE					
		<50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?						X
2	¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?						X
3	¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?						X
4	¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?						X
5	¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?						X
6	¿Qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?						X

SUGERENCIAS:

..... *Apto para el uso*

Fecha: *16 junio 2013*

Validado por: QUÍMICO FARMACÉUTICO
Enrique Montánchez Mercado
COFP N° 00336

Firma: *[Firma]*



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD N°:
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION - MARCHA FITOQUÍMICA

EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brunfelsia grandiflora* D. Don (CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

A tener presente:

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Wagner	Alcaloides	
2. Popoff	Alcaloides	
3. Mayer	Alcaloide	
4. Dragendorff	Alcaloide	
5. Shinoda	Flavonoides	
6. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	
7. Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	
8. Ninhidrina	Aminoácidos libres	
9. Fehling A y B	Azúcares reductores	
10. Gelatina + NaCl	Taninos	
11. Molisch	Glicósidos	
Leyenda: Presencia (+) Ausencia (-)		



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Nº: _____

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION - EFECTO LA SOBRE LA ARTRITIS

EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brumfelsia grandiflora* D. Don (CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

Luego de revisar el instrumento, es valiosa su opinión referida a lo siguiente:

Grupo	N	Score clínico \pm D.E				% actividad	Significancia
		0 días	7 días	14 días	21 días		
Agua destilada							
Inducción de artritis sin tratamiento							
Metotrezato 0.2 mg/Kg							
Chiric sanango 250 mg/Kg							
Chiric sanango 500 mg/Kg							
Chiric sanango 1000 mg/Kg							

SUGERENCIAS

.....
.....
.....

Fecha: 11 - 06 - 14

Validado por: _____

Firma: _____

Mg. Q.F. Fox, Henry Montellanos Calvetti
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.O.F.P. 7970 R.N.E. 030
DNI: 25796967



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD N°:
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA
HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION – EFECTO LA SOBRE LA ARTRITIS

EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Brunfelsia grandiflora* D. Don (CHIRIC SANANGO) SOBRE LA ARTRITIS INDUCIDA A RATAS ALBINAS

Luego de revisar el instrumento, es valiosa su opinión referida a lo siguiente:

Grupo	N	Score clínico \pm D.E				% actividad	Significancia
		0 días	7 días	14 días	21 días		
Agua destilada							
Inducción de artritis sin tratamiento							
Metotrezato 0.2 mg/Kg							
Chiric sanango 250 mg/Kg							
Chiric sanango 500 mg/Kg							
Chiric sanango 1000 mg/Kg							

SUGERENCIAS

.....
.....
.....
.....

Fecha: 16 JUNIO 2013

Validado por: QUÍMICO FARMACÉUTICO
Enrique Montánchez Mercado
COFP N° 00336

Firma: [Firma]

Anexo 6. Testimonios fotográficos

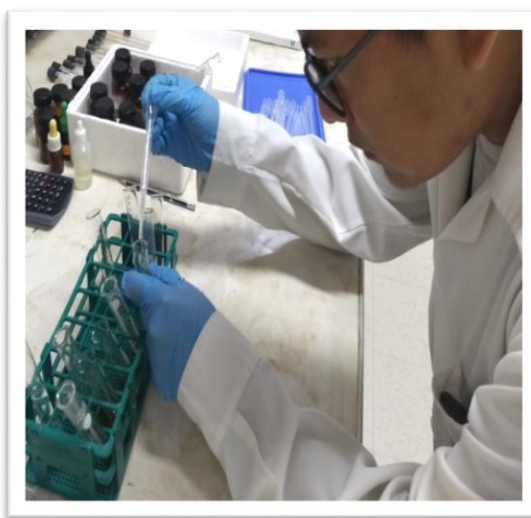
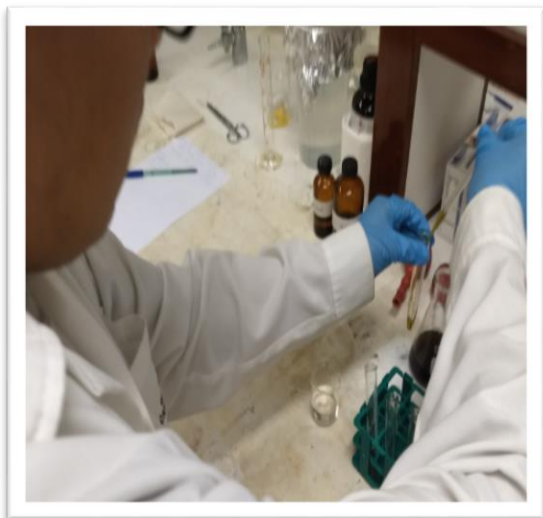


Foto 1. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango

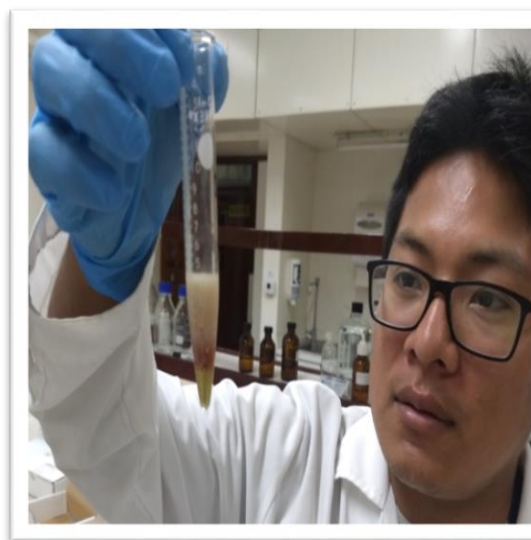
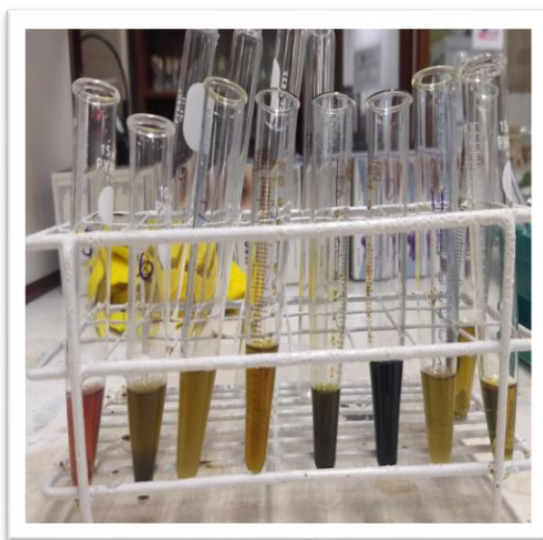


Foto 2. Lectura de identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango

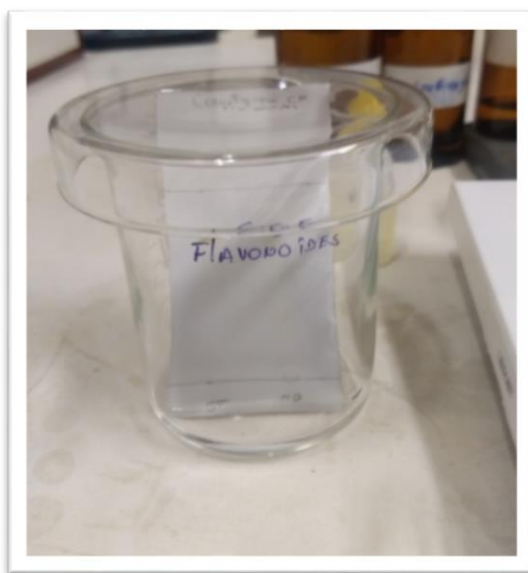
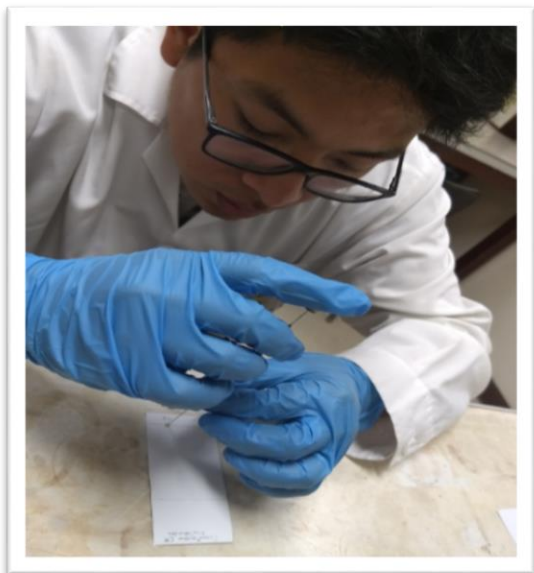


Foto 3. Análisis por cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango



Foto 4. Inducción de artritis a ratas con Adyuvante de Freund

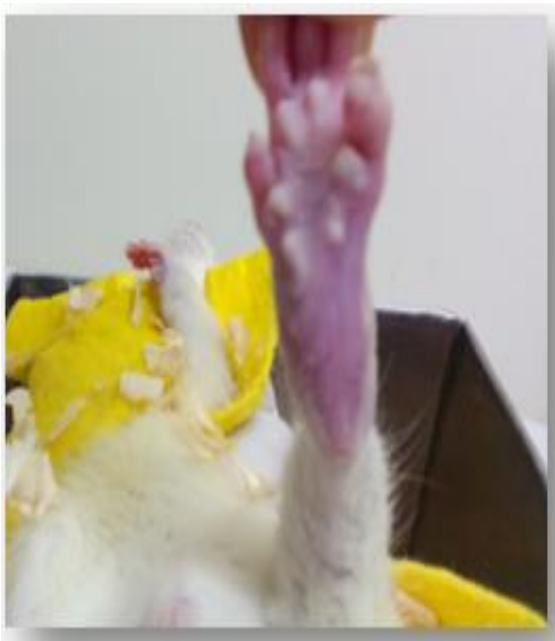


Foto 5. Articulaciones de la pata de la rata con inducción a artritis



Foto 6. Movimiento de la rata en círculo y dificultad en el traslado

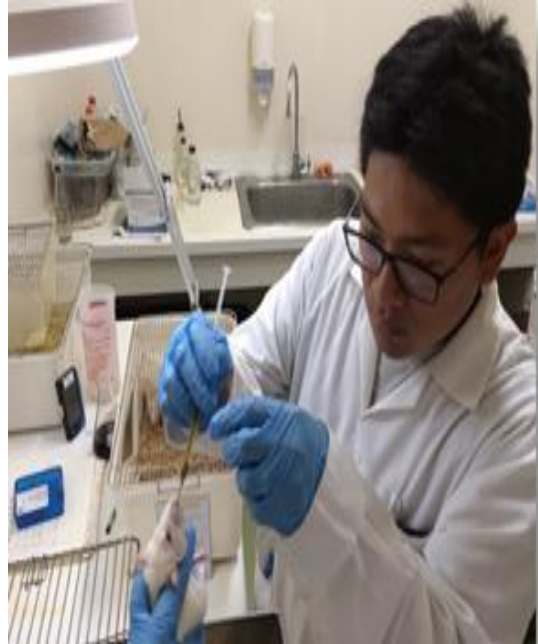


Foto 7. Administración por vía oral del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango



Foto 8. Pata de la rata post tratamiento con metotrexato 0,2 mg/Kg



Foto 9. Pata de la rata post tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango 1000 mg/Kg



Foto 10. Pata de la rata post tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango 500 mg/Kg



Foto 11. Pata de la rata post tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza de Chiric sanango 150 mg/Kg