

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las
hojas de *Portulaca oleracea* L. "verdolaga", en ratas
albinas. Ayacucho - 2020

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

Presentado por:

Bach. Lopez Alcarraz, Jhoszelne Salinova

Asesor:

Q.F. Tinco Jayo, Johnny Aldo

Ayacucho - Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL Nº 207 -2021-FCSA-UNSC-D

En la ciudad de Ayacucho siendo las ocho horas del día doce de agosto del año dos mil veintiunos, se reunieron a través de la plataforma virtual Meet los docentes miembros jurados de la Escuela Profesional de farmacia y Bioquímica, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado “Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de Portulaca oleracea L. “verdolaga”, en ratas albinas. Ayacucho – 2020”. Presentado por la Bachiller: **López Alcarraz, Jhoszelne Salinova**, para optar el título profesional de: Químico farmacéutico.

Miembros del Jurado de Sustentación conformado por:

Presidente : Prof. Emilio Ramírez Roca (Por encargo de la decanatura)

Miembros : Prof. Maricela López Sierralta

: Prof. Edgar Cárdenas Landeo

: Prof. Edwin Enciso Roca

Asesor : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo

Secretario Docente: Prof. Edward E. Barboza Palomino

Con el quorum de reglamento se inició la sustentación de tesis, el presidente de la comisión dio lectura a los documentos presentados por la recurrente, y da algunas indicaciones a la sustentante.

Da inicio la exposición la Bachiller: **López Alcarraz, Jhoszelne Salinova**, una vez concluida con la exposición, la presidenta de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, dudas y o aclaraciones, iniciando el Prof. Edwin Enciso Roca, continuó la Prof. Maricela López Sierralta y seguidamente el Prof. Edgar Cárdenas Landeo; finalmente el Prof. Emilio Ramírez Roca, inmediatamente se da pase al asesor de tesis Profesor Johnny Aldo Tinco Jayo para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes o aclaraciones.

El presidente invita a la sustentante abandonar el espacio virtual para que puedan proceder con la calificación.

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: **López Alcarraz, Jhoszelne Salinova**

NOMBRE DE JURADOS	Nota de Texto	Nota de Exposición.	Nota de respuesta a preguntas	Promedio
Profesor Emilio Ramírez Roca	16	14	15	15
Profesora Maricela López Sierralta	16	17	15	16
Profesor Edgar Cárdenas Landeo	16	16	16	16
Profesor Edwin Enciso Roca	17	16	16	16
Profesor Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17	17
Promedio Final				16

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller Jhoszeline Salinova LÓPEZ ALCARRAZ que obtuvo la nota final de dieciséis (16); para lo cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las once horas con cinco minutos se da por concluido el presente Acto Académico.

Firmado digitalmente por
Mg. Maricela López Sierralta
Fecha: 2021.08.12
10:02:08 -05'00'

.....
Jurado 1
Prof. Maricela López Sierralta

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
Firmado digitalmente por
CARDENAS LANDEO EDGAR
Fecha: 2021.08.12 10:01:54
Mg. Edgar Cárdenas Landeo -05'00'

.....
Jurado 2
Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Digitally signed by
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Date: 2021.08.12
09:52:36 -05'00'

.....
Jurado 3
Prof. Edwin Enciso Roca

Firmado digitalmente por Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO
Fecha: 2021.08.12
10:18:14 -05'00'

.....
Jurado 4
Prof. Johnny A. Tinco Jayo

Firmado digitalmente por
Dr. Emilio G. Ramírez Roca
Fecha: 2021.08.12
09:32:04 -05'00'

.....
Presidente
Prof. Emilo Ramírez Roca

Digitally signed by
Prof. Edward Barboza Palomino

.....
Secretario Docente
Prof. Edward Barboza Palomino

Ayacucho, 12 de agosto de 2021

Con mucho amor y respeto a mi familia, en especial a mi madre Valentina por su enorme sacrificio y apoyo incondicional durante mi formación profesional.

A mi hermana Naylé que siempre estuvo cuando la necesité.

A mis compañeros y amigos con quienes compartí buenos momentos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y guiarme, brindándome la oportunidad de estudiar.

A mi *Alma Mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, fuente de sabiduría y enseñanza, por brindarme la oportunidad de estudiar esta noble profesión en sus aulas, pilar de mi futuro y cumplir la meta de ser profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y especialmente a los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por su invaluable apoyo académico y moral quienes me brindaron sus conocimientos y contribuyeron en el aprendizaje y orientación de mi formación universitaria.

Mi especial reconocimiento a mi asesor **Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo** de la E.F.P. Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, por sus valiosas orientaciones, conocimientos y experiencias, que apoyaron incondicionalmente en la culminación del presente estudio para elevar mi nivel como profesional químico farmacéutica.

También agradezco a todos mis amigos y las personas que colaboraron de cualquier manera en la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación, muchas gracias de todo corazón.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Aspectos botánicos de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”	5
2.3 Revisión de parámetros fisicoquímicos al extracto	9
2.4 Identificación fitoquímica cualitativa de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico	9
2.5 Compuestos fenólicos	10
2.6 Metabolitos secundarios	16
2.7 Farmacología de la inflamación	17
2.8 Tipos de inflamación	20
2.9 Método de edema plantar, inducido por carragenina en rata	22
2.10 Indometacina	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Ubicación del trabajo de investigación	27
3.2 Materiales	27
3.3 Diseño metodológico para la recolección de datos	28
3.4 Determinación de la actividad antiinflamatoria	31
3.5 Diseño experimental	36
3.6 Análisis estadístico	37
IV. RESULTADOS	39
V. DISCUSIÓN	47
VI. CONCLUSIONES	57
VII. RECOMENDACIONES	59
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
IX. ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”.	5
Tabla 2. Diseño experimental de los tratamientos a distintas dosis, de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	36
Tabla 3. Metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	40
Tabla 4. Características de las reacciones químicas en la fracción del acetato de etilo que contiene a los flavonoides de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”, Ayacucho – 2020.	41
Tabla 5. Características cromatográficas de los flavonoides presente en las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” y del estándar de referencia. Ayacucho – 2020.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representación de la estructura básica de los flavonoides (fenilbenzopirano).	12
Figura 2. Representación de la estructura química de indometacina (2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il] ácido acético).	23
Figura 3. Variación del volumen de inflamación del edema plantar en rata albina en función al tiempo por efecto de los diferentes tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” y del estándar de referencia. Ayacucho – 2020.	43
Figura 4. Porcentaje de inflamación en función de los diferentes tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	44
Figura 5. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	45
Figura 6. Área bajo la curva (ABC) del volumen de inflamación en función del tiempo según los tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	46

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”, Ayacucho – 2017.	70
Anexo 2. Certificado del material biológico. Ayacucho – 2019.	71
Anexo 3. Fotografía de la <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	72
Anexo 4. Esquema de la recolección, identificación, lavado y secado de la muestra de la <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	73
Anexo 5. Recolección y secado de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	74
Anexo 6. Esquema de la obtención del extracto hidroalcohólico de la <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	75
Anexo 7. Esquema de la técnica para la extracción de flavonoides del extracto etanólico de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	76
Anexo 8. Esquema de la marcha fitoquímica del extracto etanólico al 80% de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	77
Anexo 9. Metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	78
Anexo 10. Reconocimiento de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	79
Anexo 11. Reconocimiento de metabolitos secundarios en la fracción del acetato de etilo aislado de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	80
Anexo 12. Análisis cromatográfico de los flavonoides (I) y la quercetina (II) en las cromatoplasmas de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” presentes en la fracción de acetato de etilo, vistos en la lámpara UV CAMAG a 254 nm y a 366 nm respectivamente. Ayacucho – 2020.	81
Anexo 13. Cromatografía en capa fina de los flavonoides aislados (I), quercetina (II), revelados con cloruro férrico al 5%. Ayacucho – 2020.	82
Anexo 14. Cromatografía en capa fina: quercetina (I) y los flavonoides aislados (II), revelados con shinoda. Ayacucho – 2020.	83

Anexo 15.	Distribución de los grupos experimentales para la determinación del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” a distintas dosis. Ayacucho – 2020.	84
Anexo 16.	Medición del volumen de la pata inflamada con el equipo Pletisnómetro Digital LE 7500. Ayacucho – 2020.	85
Anexo 17.	Volumen promedio de inflamación en (mL) de la pata trasera en la evaluación del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” a distintas dosis. Ayacucho – 2020.	86
Anexo 18.	Porcentaje de inflamación de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	87
Anexo 19.	Resultado del análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” y el estándar indometacina frente a la inflamación producida por la carragenina al 1%. Ayacucho – 2020.	88
Anexo 20.	Prueba de HSD de Tukey para el porcentaje de eficacia de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” y el estándar (indometacina) frente a la inflamación producida por la carragenina. Ayacucho – 2020.	89
Anexo 21.	Vías de biosíntesis de los eicosanoides.	90
Anexo 22.	Flujograma del proceso de extracción de los flavonoides de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	91
Anexo 23.	Flujograma del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.	92
Anexo 24.	Matriz de consistencia del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”, en ratas albinas. Ayacucho – 2020.	93

RESUMEN

Los procesos inflamatorios no controlados desencadenan diversas patologías, convirtiéndose un problema de salud pública. En este sentido, el presente trabajo tuvo como finalidad determinar la efectividad antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. "verdolaga". El estudio se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La planta fue recolectada en el valle de Muyurina, provincia de Huamanga. El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración con etanol al 80%. En el tamizaje fitoquímico se reporta la presencia de: alcaloides, cumarinas, auroras, quinonas, catequinas, azúcares reductores, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos libres, flavonoides y glucósidos cardiotónicos. Los flavonoides fueron aislados mediante la técnica de extracciones sucesivas, obteniéndose 20 g. Para la evaluación del efecto antiinflamatorio se empleó el método del edema plantar con el carragenano, utilizando 40 ratas albinas machos, repartidos aleatoriamente en 5 grupos, las patas inflamadas se midieron en el pletisnómetro digital. Los resultados se analizaron estadísticamente por el análisis de varianza (ANOVA), mostrando que existen diferencias estadísticamente significativas del 95% ($p < 0,05$) y la Prueba de Tukey confirmó que 100 mg/kg mostró un mejor efecto y mayor eficiencia antiinflamatoria en (100%) mejor que la indometacina (82,32%). En conclusión los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. "verdolaga" tiene efecto antiinflamatorio y es una excelente opción en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias.

Palabras clave: *Portulaca oleracea* L. "verdolaga", flavonoides, antiinflamatorio, indometacina.

I. INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines terapéuticos se ha venido utilizando desde la antigüedad. Durante mucho tiempo los medios naturales, sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso terapéutico disponible. Este suceso hizo que se ahondara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen diversas propiedades medicinales y por ende se ampliara la experiencia en el empleo de los productos que se extraigan a partir de ellas, como una nueva alternativa de tratamiento. En la práctica moderna, esto supone un segmento no controlado de la terapia farmacológica, por la posibilidad de los efectos terapéuticos de las plantas.¹

Nuestra región posee una amplia y rica diversidad en flora. Es por ello que, como profesionales de la salud, estamos en la obligación de incrementar el estudio de las especies vegetales para contribuir a su mejor aprovechamiento y beneficio para la población.²

Portulaca oleracea L. “verdolaga” ha sido investigada científicamente, y se ha comprobado que posee actividad antiinflamatoria según Guzmán L y Ramírez J, en el 2015. El efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de las partes aéreas (hojas secas) de *P. oleracea* L., mostró actividad antiinflamatoria muy significativa, y además comprobaron que esta planta inhibe la inflamación mediante mecanismos de bloqueo de los factores que participan en mecanismo de inflamación.³

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituidos por 15 átomos de carbono, distribuidos en el reino vegetal en más de 2,000 especies de diversas familias. Desempeñan un rol significativo en la fisiología vegetal, debido a que reaccionan frente al estímulo de la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas.¹

Los flavonoides compuestos que se encuentran en diferentes órganos vegetales como frutos, hojas, flores y cortezas, representando un grupo importante con mayor función farmacológica, posee una elevada reactividad química, y se manifiesta por poseer efectos sobre diferentes sistemas biológicos. Muchas propiedades farmacológicas se atribuyen a los flavonoides: antimicrobiano, antiviral, diurético, antiespasmódico, cicatrizante y antiinflamatorio.¹

Los AINEs son fármacos más vendidos a nivel mundial, se estima que más de 30 millones de personas en el mundo reciben algún AINE diariamente, ² en especial los adultos mayores y en menor porcentaje los deportistas.³ Los AINEs son recomendados en el primer peldaño de la escalera analgésica de la OMS.² Sin embargo, estos medicamentos manifiestan efectos secundarios ampliamente reportados, como: problemas cardiovasculares, renales, gastrointestinales y otros, dependiendo de la vía de administración.³

El objetivo general de este estudio es demostrar experimentalmente el efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” a diferentes concentraciones empleando el modelo *in vivo* de edema plantar inducido con carragenina en ratas albinas machos de la cepa Holtzman.

Los objetivos específicos trazados fueron:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” mediante tamizaje fitoquímico.
- Determinar la concentración con mayor efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y comparar con el estándar (indometacina).
- Determinar el porcentaje de eficacia antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” frente al estándar (indometacina).

El presente trabajo de tesis es el resultado de trabajo metódico y cuidadoso, desde el aislamiento de los flavonoides, evaluación a través de ensayos experimentales *in vivo*, aplicación de modelo experimental de inflamación inducida por carragenina, hasta el análisis de los datos obtenidos y su redacción. Esperamos que el presente trabajo de tesis contribuya al conocimiento de las propiedades farmacológicas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, que sirva de referencia para otros estudios de mayor precisión y sobre todo, sirva como evidencia científica para estudios preclínicos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio

Zainab J y Estabraq H, en el 2015 realizaron investigaciones en Iraq sobre el aislamiento e identificación de flavonoides bioactivos (genisteína, rutina) de *Portulaca oleracea* L. cultivada en Iraq, cuyo propósito de investigación fue aislar los flavonoides de *Portulaca oleracea* L. con la ayuda de la cromatografía líquida de alta performance (HPLC), y cromatografía preparativa en capa fina (TLC), identificada por FT-IR, y medición de punto de fusión (M.P). Obteniéndose la isoflavona (genisteína) y el flavonol (rutina) pueden aislarse y purificarse de la fuente natural fuentes como *Portulaca oleracea* L.⁴

Guzmán L, García V, Cuesta O, Jaramillo C, *et al*, en el año 2017 realizaron un estudio en la Habana – Cuba. Plantearon por objetivo el evaluar la composición química de las partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga) y comprobar la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico. Obtuvieron como resultado del tamizaje fitoquímico, que la planta contiene principios activos como los alcaloides, fenoles y flavonoides. La actividad antiinflamatoria se mostró a dosis de 500 mg/kg del extracto etanólico, muy semejante al control positivo (Naproxeno sódico).⁵

García A, en el 2015 en México, realizó un estudio que consistió en evaluar mediante el tamizaje fitoquímico los metabolitos secundarios presentes en las plantas de *Portulaca oleracea* L. y *Achillea millefolium*, y determinar sus propiedades nutraceuticas. En el tamizaje fitoquímico dio positivo la presencia de Alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, taninos, cumarinas, glicósidos cardíacos y esteroide. En la actividad antiinflamatoria se muestran que la flor de *Achillea millefolium* presentó mayor porcentaje de inhibición 64,61%, mientras que la flor de *Portulaca oleracea* L. tuvo menor porcentaje 36,49% en comparación con el fármaco estándar (Indometacina).⁶

Santamaría L, en el 2011 realizó un estudio en Ecuador, cuyo objetivo fue evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos etanólicos de las partes aéreas de verdolaga (*Portulaca oleracea*), ensayadas en ratas (*Rattus norvegicus*) con el método del edema plantar inducido con carragenina. En el extracto se evidenció mayor contenido de flavonoides, por ende se le atribuyó la actividad antiinflamatoria; en relación a lo anterior, el extracto etanólico de la verdolaga a dosis de 350 y 500 mg/Kg exhibieron una mayor eficiencia antiinflamatoria muy superior al fármaco de referencia (indometacina de 25 mg/kg).⁷

Guzmán L y Ramírez J, en el 2015 en un estudio realizado en Ecuador, desarrollaron una forma farmacéutica de tipo gel a partir del extracto etanólico al 95% de las partes aéreas (hojas, tallos y semillas) de la *Portulaca oleracea* (verdolaga), con el fin de comprobar la actividad antiinflamatoria. El contenido promedio de fenoles totales (TPC) de 0,673 mg/mL, contribuyó que se diera el efecto antiinflamatorio. Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria utilizó la técnica de edema plantar inducido con la solución de carragenina. El ensayo preclínico del extracto etanólico al 95%, demostró poseer significativamente la propiedad antiinflamatoria muy semejante al control positivo utilizado (naproxeno sódico).³

En el 2014, Reaño C, realizó una investigación en la Universidad Nacional de Trujillo – Perú; cuyo objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Mentha spicata* “hierba buena”, *Portulaca oleracea* “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león”, sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*. Donde determinó que los extractos etanólicos de las especies *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mentha spicata* “hierba buena” son activos a la concentración de 10 mg/mL, y obtuvieron una buena efectividad antibacteriana solamente al *Staphylococcus aureus*.⁸

Coronado E, en el 2013 mediante el estudio realizado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – Perú. Evaluó la propiedad antiinflamatoria y antioxidante atribuida a los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (DC) King & Rob “marmaquilla”. Obteniendo buenos resultados en el que se demostró que la dosis de 400 mg/kg de los compuestos fenólicos tuvo mayor actividad antiinflamatoria en un (9,53%), comparación entre las dosis evaluadas y similar efecto antiinflamatorio que el

estándar - diclofenaco en un (6,76%); y en la actividad antioxidante a la concentración de 100 ug/mL presentó una buena capacidad inhibitoria de los radicales libres del DPPH en un (96,68%), comparable al ácido caféico (97,08%) y el ácido ascórbico (95,51%).⁹

2.2 Aspectos botánicos de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”

2.2.1 Clasificación taxonómica

La Tabla 1, muestra la clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist. A. 1988. (Anexo 1)

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.

Categoría taxonómica	Clasificación
DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	: CARYOPHYLALES
FAMILIA	: PORTULACACEAE
GÉNERO	: <u>Portulaca</u>
ESPECIE	: <i>Portulaca oleracea</i> L.
N.V	: “verdolaga”

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamanguensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (2017) (Anexo 1).

Sinonimias: *Portulaca nitida* Danin & H. G. Baker; *Portulaca stellata* Danin & H. G. Baker.¹⁰ *Portulaca marginata* Kunth, *Portulaca pusilla* Kunth, *Portulaca consanguinea* Schlechtendal; *Portulaca intermedia* Link & Schlechtendal.¹¹

2.2.2 Nombres comunes

La “verdolaga” recibe diferentes nombres comunes que varían de acuerdo al idioma, localidad o el país.

Árabe: *Rigla, Redjila, Rigla roomi, Ragl, Riglah, Rashaad, Hurfa, Baqlet el-hamqa.*¹⁰

Inglés: Purslane, Garden purslain.¹⁰

Español: Verdolaga común, beldroaga.¹⁰ Uadela.⁶

Quechua: Llutu lutu, Llutu yuyu.¹²

Shipibo – conibo: Kapin.¹²

2.2.3 Descripción botánica del género *Portulaca*

La *Portulaca oleracea* L, “Verdolaga”, planta anual suculenta perteneciente a la familia Portulacaceae, es un vegetal muy ramificado de crecimiento rastrero con apariencia baja¹³, con tallos carnosos de 5 – 50 cm y rojizos, que acumulan grandes cantidades de agua.¹⁴ Las hojas simples y abundantes de pequeño

tamaño de 1 – 2 cm de color variable del verde al rojo, son sésiles, alternas u opuestas, obovado – oblongas, de margen entero, ápice obtuso, y con estípulas setáceas en la base. Las flores hermafroditas son de color amarillo de 6 mm de diámetro aproximadamente, presentan brácteas y sépalos petaloides, son sésiles y terminales, solitarias, pocas veces forman pequeños grupos de 3. El cáliz es conformado por 2 sépalos de 4 mm, la corola presenta 4 – 6 pétalos de color amarillo que tornan a rojo, y son más largos que los sépalos. El androceo (órgano reproductor masculino) está formado por más de 7 estambres, el gineceo (análogo del androceo), muestra una posición ovárica semiinfero a ínfero, con una cavidad, y el estilo dividido en 2 – 8. La florescencia se da en mayo a setiembre. El fruto maduro tiene un diámetro de 0,6 – 1 mm con forma de cápsula y es muy membranosa, se abre transversalmente y se libera numerosas semillas muy pequeñas subreniformes de color negro brillante. Las variantes de las sub especies de la *Portulaca* dependen mucho de su ornamentación.⁷

Esta suculenta es extremadamente resistente a las sequías, debido a que presentan en sus tejidos grandes células de paredes delgadas, acumulando gran cantidad de agua en el córtex o en la médula.^{7, 14}

2.2.4 Distribución geográfica

La verdolaga es una herbácea cosmopolita muy resistente a zonas áridas, adaptándose a casi cualquier tipo de terreno.⁷ Se distribuyen abundantemente en terrenos sin cultivar, terraplenes, brechas de cemento del suelo, alrededor de veredas, y muchas veces se le encuentran como maleza invadiendo terrenos con cultivos.⁷ En el Perú es cultivada en suelos ricos en materia orgánica como en la costa, sierra y selva, hasta los 3,000 metros sobre el nivel del mar.¹⁵

2.2.5 Habitud

Verdolaga especie cosmopolita destacada por su característica fisiológica y morfológica, observándose favorablemente por soportar condiciones vulnerables del medio ambiente y el clima, demostrándose ser una de las principales descendencias en identificarse y descubrirse.¹³

2.2.6 Composición química de las hojas

La “verdolaga” es una planta resistente a la sequía y tolerante a la sal, la cual contiene altas cantidades de ácidos grasos beneficiosos omega-3 y vitaminas antioxidantes que hacen que se adapte fácilmente a estas condiciones. Existen varios estudios científicos sobre la composición química de la planta los cuales se citan a continuación.³

Según Gusmán L y Ramirez J, en el 2015, determinó que el agua es el principal constituyente en la verdolaga en los tallos (media 90,5%) y hojas (media 91,8 %), el porcentaje de grasa variaba de 0,11% a 0,57%. Esta planta es muy rica en ácidos grasos poliinsaturados esenciales (PUEFA), ya que en un estudio se han encontrado veinte y siete ácidos grasos en las muestras de hojas, siendo el ácido linolénico el más abundante, el cual varía desde 27,7 hasta 39,1%, seguido por palmítico (19,3 a 24,3%) y ácidos oleico (11,6-19,5%). Tanto el ácido alfa-linolénico (LNA) y ácido linoleico (LA), son esenciales para el crecimiento normal humano, promoción de la salud y prevención de enfermedades.³

También se detectaron cinco ácidos orgánicos diferentes como son: fumárico, aconítico, cítrico, málico y oxálico. Siendo el ácido oxálico (OA) y cítrico los más abundantes, mientras que el ácido aconítico el más bajo. El OA cuando está presente en la dieta humana se puede combinar con minerales esenciales tales como calcio y hierro, para formar sales insolubles conocidos como oxalatos y dificultar su biodisponibilidad.³

En cuyo trabajo de investigación basado en sus antecedentes bibliográficos, comprobaron el perfil de ácidos grasos y β -caroteno, de un número de variedades australianas de verdolaga (*Portulaca oleracea*) los mismos que se determinaron por GC y HPLC. El contenido de ácido graso total de masa fresca en hojas osciló de 1,5 a 2,5 mg/g, en tallos de 0,6 a 0,9 mg/g y en semillas de 80 a 170 mg/g. Ácido α -linolénico (C18: 3 ω 3) representaron alrededor de 60% y 40% del contenido total de ácidos grasos en las hojas y semillas, respectivamente. No se detectaron ácidos grasos omega-3 de cadena larga. El contenido de β -caroteno varió del 22 al 30 mg/kg de masa fresca en las hojas.³

Estos resultados indican que las variedades verdolaga australianos son una fuente rica de ácido α -linolénico y β -caroteno.³

Contiene muchos compuestos biológicamente activos y es una fuente de muchos nutrientes, alcaloides, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardíacos, antraquinona, proteínas, el ácido α -linolénico y β -caroteno, glicósido mono terpenos, N-transferuloyltiramina, también vitamina C, oleorresinas-I y II, saponinas, taninos, sacáridos, triterpenoides, α -tocoferol y glutatión.³

Un método general basado en electroforesis capilar con detección electroquímica (CE-ED) fue desarrollado para la identificación y determinación de cinco flavonoides (kaempferol, apigenina, miricetina, luteolina y quercetina) en

especies de plantas. El método CE-ED optimizado fue empleado para analizar los flavonoides anteriores en diferentes partes del *Portulaca oleracea* L.³

Del extracto de metanol de *Portulaca oleracea*, un nuevo glucósido monoterpeno, portuloside A, ha sido aislado. La estructura de portuloside A fue establecida por métodos espectroscópicos y luego confirmó que Full-size image (<1 K) por síntesis de linalool (3S) – 3 – (3,7 – dimethylocta – 1,7 – dien – 6 - onyl) – β - d - glucopyranoside.³

Se encontró la presencia de cinco alcaloides, como son: oleraceins A, B, C, D y E que fueron aisladas de *Portulaca oleracea* L., y sus estructuras determinadas por métodos espectroscópico, junto con otros constituyentes conocidos que incluyen ácido p-cumárico, ácido ferúlico y adenosina.³

La elevada variedad de fitoconstituyentes en este vegetal se consideran los responsables de las actividades biológicas como antibacteriano, antifúngico, analgésico, antiinflamatorio, antifertilidad, relajante del musculo esquelético y propiedad cicatrizante.³

2.2.7 Uso en la medicina tradicional

La *Portulaca oleracea* “verdolaga”, desde la antigüedad es empleada como medicina alternativa por ser la principal herramienta en el uso terapéutico.¹³ En la medicina popular es utilizada como emoliente, antiespasmódico, purgante, vermífugo, febrífugo, antiséptico, antiescorbuto, diurético, depurativo recomendado en pacientes con obesidad, analgésico/antiinflamatorio para aliviar (dolores e inflamaciones) como en la inflamación del sistema urinario, en caso de conjuntivitis, cálculos urinarios, gingivitis, estomatitis, forúnculos, abscesos, reumatismo y boqueras. Sin embargo, los efectos terapéuticos que presenta esta planta aún no son comprobados en muchos de estos casos.⁷

En la península arábiga, la verdolaga se corta usualmente en pequeños trozos tanto hojas como semillas, se cocinan o se usan tópicamente para afecciones en la piel. El jugo de las hojas en compresa aplicadas sobre la sien alivia el exceso de calor, las hojas en infusión como diurético. Esta planta se ha estudiado exhaustivamente en Nigeria y Escocia principalmente por su actividad como relajante muscular. Por otro lado, la administración intravenosa de 200 mg/kg de verdolaga produce convulsiones en ratones por el alto contenido de potasio de esta planta.¹⁶

Por otra parte esta planta es utilizada como diurética, contra enfermedades de la vejiga e hígado y para calmar dolores renales, además para la disentería,

apendicitis, hemorroides y hemorragia pos parto. Tanto sus tallos como sus hojas y flores son comestibles, puede consumirse fresca como ensalada o cocinada como espinaca y presenta una alta capacidad antioxidante.¹⁷

Esta especie vegetal posee la capacidad refrescante, es muy útil su aplicación en cataplasma para poder aliviar dolores de cabeza, antiinflamatorio muy útil para desinflamar diversas partes del cuerpo, alivio de las infecciones urinarias, y muchas molestias más. En uso interno, sirve para aliviar las afecciones digestivas como el ardor de estómago, por otro lado es utilizado para reducir la libido. La aplicación del zumo de esta planta es aludida como remedio terapeutico.^{7 14}

2.3 Revisión de parámetros fisicoquímicos al extracto

La evaluación de los parámetros fisicoquímicos hacia el extracto, fueron obtenidos mediante las siguientes determinaciones: ⁷

- Determinación de las características organolépticas (olor, color y sabor (dulce, amargo, picante)).⁷
- Determinación de la densidad relativa.⁷
- Determinación del índice de refracción.⁷
- Determinación del ph.⁷
- Determinación de los sólidos totales.⁷

2.4 Identificación fitoquímica cualitativa de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es considerara como la etapa principal de toda investigación fitoquímica, con la finalidad de determinar a los principales grupos químicos que se presentan en una planta de forma cualitativa y a partir de ello facilita la orientación en la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para obtener grupos de mayor interés en el aislamiento. Esta evaluación fue realizada según el procedimiento de Miranda y Cuellar⁵, el cual se trata de un esquema general que utiliza la extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente.³

2.4.1 Identificación de flavonoides

- **Ensayo de Shinoda:** Permitirá reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluirá con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se esperará 5 minutos se

añadirá 1 mL de alcohol amílico se mezclarán las fases y se dejará reposar hasta que se separe. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se producirá de igual forma a partir de la adición del HCL concentrado. El ensayo se considerará positivo, cuando el alcohol amílico se coloreará de amarillo, naranja carmelita o rojo; intensos en todos los casos.⁷

- **Ensayo de hidróxido de sodio al 20%:** Para la identificación cualitativa de los flavonoides se adicionaran 3 gotas de hidróxido de sodio, si se forma una coloración de amarillo a rojo, indica la presencia de xantonas y flavonas; de café a naranja de flavonoles; de purpura a rojizo de chalconas y de azul de antocianinas.⁶

Para la identificación cualitativa de compuestos fenólicos se utilizará la reacción con NaOH, la Norma Salvadoreña establece que la reacción para identificar compuestos fenólicos debe ser positiva para que el producto sea aceptado. Las coloraciones para una reacción positiva con NaOH, varía del amarillo al anaranjado rojizo. En la reacción con NaOH se produce la ruptura del anillo C de un flavonoide el cual puede ser de una flavona o de una flavanona, esta ruptura producirá la formación de una chalcona lo que se evidenciará con una coloración amarilla que puede variar en intensidad.¹⁸

2.4.2 Identificación cualitativa por Cromatografía Capa Fina (CCF)

La Cromatografía Capa Fina (CCF) o también denominada Cromatografía Capa Delgada (CCD) es una técnica simple y eficaz para la identificación de metabolitos, que tiene como fundamento la separación de las moléculas que son arrastradas por un eluyente mostrando distancias de corrimiento y colores específicos para cada compuesto o que nos da una idea de lo que puede estar presente en la muestra.³

2.5 Compuestos fenólicos

También llamados fenoles, referidos a un grupo de compuestos químicos orgánicos, cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, frecuentemente como glucósidos. Relativamente polares, con tendencias a la solubilidad en agua, y son detectados por presentar una coloración (verde, purpura, azul o negro), esta reacción se da al agregar el cloruro férrico 1% (solución acuosa al 1%). Debido a la naturaleza aromática de estos fenoles, presentan una mayor absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su análisis cuantitativo del fenol y respectiva identificación.¹⁹

En estos últimos años se vinieron acumulando evidencias de los compuestos fenólicos, que al ser adicionados de forma habitual en la dieta cotidiana podrían traer implicaciones benéficas en la salud humana como la disminución de algunos tipos de cáncer. Además estos compuestos fenólicos son utilizados en el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y problemas cardiovasculares ya que ejercen una actividad sobre el sistema circulatorio, posibilita la mejora de la circulación periférica, favorece la movilización del lípido (colesterol) ²⁰ y reduce la fragilidad capilar.¹⁹

2.5.1 Clasificación de los compuestos fenólicos

Los polifenoles se pueden clasificar de muchas maneras debido a su diversidad estructural. Según su estructura química tenemos dos grandes grupos:²⁰

2.5.1.1 No flavonoides

Entre ellos: Ácidos fenoles, derivados del ácido benzoico C₆-C₁ y derivados del ácido cinámico C₆-C₃.²⁰

2.5.1.2 Los flavonoides (C₆-C₃-C₆)

Son metabolitos secundarios formado por 15 átomos de carbono, su estructura está formada por dos grupos bencénicos y unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos y se ciclan a través de un oxígeno. Se clasifican por sus diversas variaciones estructurales como: antocianos, isoflavonas, flavonas, flavononas, flavanoles, flavanonoles, taninos condensados y lignanos.²⁰

Estos compuestos fenólicos son producto de la síntesis de la molécula fenilalanina y tres de malonil-Co A. En el origen de los flavonoides, es controlada por dos enzimas denominadas chalcona sintasa y chalcona flavonona isomerasa. Químicamente los flavonoides son compuestos con bajo peso molecular y poseen una estructura en común de difenilpiranos (C₆-C₃-C₆), este esqueleto base están compuestos por dos anillos de fenilo (A y B), y estas están ligadas por un anillo heterocíclico C de pirano ^{19, 21}.

Los flavonoides que presentan mayor actividad antioxidante son la quercetina y la catequina debido a sus propiedades estructurales. La quercetina está conformado por un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo -OH en la posición 3 del anillo C, y la catequina posee un grupo -OH en la posición 3 del anillo C. Dichas estructuras son las responsables de ejercer la acción inhibitoria hacia los radicales de hidroxilo y superóxido, ya que son los principales inductores de la peroxidación de los lípidos.²¹

2.5.1.2.1 Estructura química del flavonoide

Todos los flavonoides son originados a partir de la ruta biosintética mixta mediante la vía del ácido shikímico y policétidos. Son sintetizados a partir de las flavononas que estas a su vez se derivaron de las chalconas provenientes de la vía fenilpropanoide. Su formación es a partir de los aminoácidos aromáticos de la fenilalanina, tirosina y las unidades de acetato.¹⁹

Cuya estructura química contiene un número variable de grupos hidro-fenólicos, como los quelantes del hierro y otros metales de transición.²¹

Los flavonoides son estructuras hidroxiladas en el anillo aromático, y por tanto son estructuras polifenólicas. Poseen un grupo carbonilo en la posición 4, y por ende las variaciones se dan en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C₃ y en el anillo B.¹⁹

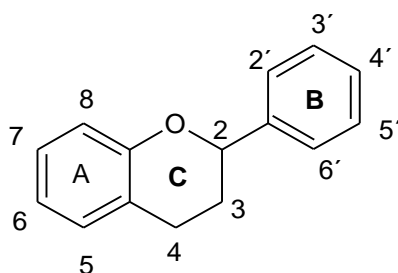


Figura 1. Representación de la estructura básica de los flavonoides (fenilbenzopirano).¹⁹

2.5.1.2.2 Clasificación y distribución del flavonoide

Los flavonoides son clasificados por sus variaciones estructurales. Al realizar una modificación a nivel del esqueleto común de los flavonoides por glicosilación, oxidación, reducción o alquilación, el núcleo fenilpropanoide produce un escaso número de estructuras básicas, del cual se da una diversa gama de flavonoides como las flavanonas, flavonoles, flavonas, flavanoles, antocianinas, flavanoles, isoflavonas, chalconas y neoflavonas. Los diversos tipos de flavonoides difieren entre sí, debido al nivel de oxidación y sustitución de los grupos en el anillo C, mientras que los componentes individuales dentro de una clase difieren en la sustitución en los anillos A y B.¹⁹

Estos flavonoides a nivel de su estructura química presentan tres características fundamentales para que puedan cumplir su determinada función:²¹

- Presencia del grupo catecol u o-dihidroxi en el anillo B.
- Presencia de un doble enlace en la posición 2,3 de los Flavanos.

- Presencia de un grupo –OH en la posición 3 y 5, pertenecientes a las Antocianidinas.

Los flavonoides se encuentran distribuidos ampliamente en todo el reino vegetal (presente en más de 2,000 especies de diversas familias), especialmente en las angiospermas, sin embargo se han detectado algunos pocos entre hongos y algas. Encontrándose en diversas partes de las plantas, y en mayor cantidad en las partes aéreas (hojas y tallos), muchas veces se les encuentra en forma libre como agliconas flavonoides, glicósidos, y en la mayoría de las veces, como sulfatos y raras veces como dímeros y/o polímeros. Los glicósidos se encuentran en dos clases: como carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), es decir como O-glicósidos; o los carbohidratos ligados a través de enlaces C-C, es decir como C- glicósidos. De todas estas formas naturales, la más común de hallar es a los O-glicósidos. Las antocianinas se encuentran como sales, principalmente en flores, frutos y tejidos con coloraciones que van del rojo, violeta y hasta el azul.²²

Raras veces se han encontrado los diversos tipos de flavonoides en un mismo tejido vegetal, sin embargo en las raíces de *Lonchocarpus subglaucescens* (leguminosas) se encontraron varios metabolitos como las flavonas, flavonoles, isoflavonas, rotenoides, chalconas y flavanoles.²³

2.5.1.2.3 Propiedades

Los flavonoides sólo se presentan en las plantas, aprovechando esta propiedad, antiguamente usaron ciertas flores para teñir la lana. En la industria alimentaria es utilizado como preservante de las grasas y jugos. Algunos flavonoides como la quercetina, que tiene la propiedad de ser antioxidante y es utilizado para la prevención del cáncer por su alta capacidad secuestradora de radicales libre. Estos flavonoides en la química analítica son utilizados para el análisis de cationes por su característica de formar complejos colorados en presencia de los metales.²⁴

a) Propiedad antioxidante: Los radicales libres y especies reactivas de oxígeno son producidos durante el metabolismo normal del oxígeno o bien son inducidos por factores exógenos, estas moléculas son un verdadero riesgo potencial para las células y tejidos. Los flavonoides ejercen un efecto protector debido a que forman parte del sistema de defensa antioxidante exógeno del organismo, estas defensas son adquiridas a través de la ingesta alimenticia.¹⁹

- b) Propiedades antiinflamatorias:** Muchos de los flavonoides poseen la acción antiinflamatoria, relacionado con la interacción de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico. Estudios *in vitro*, demuestran que los flavonoides polihidroxilados actúan de forma preferente sobre la vía 5-lipooxigenasa, sin embargo los menos hidroxilados actúan inhibiendo principalmente a la vía ciclooxigenasa. Por otro lado estudios *in vivo*, demuestran que se comportan como inhibidores duales. Esta diferencia de comportamientos, no exclusiva de los flavonoides, se debe a la biotransformación que sufren en el organismo. Otros mecanismos e intervenciones de los flavonoides implicados directamente en la acción antiinflamatoria son:¹⁹
- La liberación de histamina es inhibida por la histidina decarboxilasa.¹⁹
 - En el proceso inflamatorio los leucocitos son dirigidos por quimiotactismo hacia el foco inflamatorio, en este proceso se da la inhibición de la migración celular, donde son activados y van liberando a los eicosanoides y diversos agentes proinflamatorios.¹⁹
 - Acción antirradicalaria (actúa frente a los radicales libres que se originaron en la inflamación).¹⁹
- c) Propiedades anticancerígenas:** Muchos flavonoides han demostrado ser muy eficaces en el tratamiento del cáncer, debido a que inhiben el crecimiento celular de las células cancerosas. En unos estudios de la apigenina y la quercetina, han demostrado ser muy beneficiosas contra el cáncer de hígado.¹⁶
- d) Propiedades cardiotónicas:** Posee un efecto tónico sobre el corazón, potenciando la contracción del músculo cardíaco y mejorando la circulación sanguínea, esta propiedad es atribuida principalmente al flavonoide quercetina, y es producido en menor intensidad por otros flavonoides como la genisteína y la luteolina. Estudios demuestran que los flavonoides reducen el riesgo de enfermedades cardíacas.¹⁶
- e) Propiedades antitrombóticas:** Impide la formación de trombos en los vasos sanguíneos y mejora la circulación sanguínea. Por la capacidad de estos componentes es usado en la prevención de muchas enfermedades cardiovasculares.¹⁶
- f) Protección del hígado:** Algunos flavonoides han demostrado disminuir la probabilidad de contraer enfermedades en el hígado. Estudios en

laboratorio, durante el tratamiento de hepatitis han demostrado que la silimarina protege y regenera a los hepatocitos del hígado. El uso concomitante de la quercetina y la apigenina, demostraron ser muy eficientes para eliminar ciertas dolencias digestivas relacionadas con el hígado, dando la sensación de plenitud y mejoría contra los vómitos.¹⁶

- g) Protección del estómago:** Algunos flavonoides como la quercetina, rutina y el kaempferol, tienen propiedades antiulcerosas por proteger la mucosa gástrica.¹⁶
- h) Antiinflamatorios y analgésicos:** Para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis reumatoidea, se ha utilizado a la hesperidina debido a que presenta propiedades antiinflamatorias y analgésicas. Los taninos presentan propiedades astringentes, vasoconstrictoras y antiinflamatorias, pudiendo ser utilizado en el tratamiento de las hemorroides.¹⁶
- i) Antimicrobianos:** Los isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos son metabolitos secundarios, demostraron poseer propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas.¹⁶
- j) Fragilidad capilar:** El uso de los flavonoides mejoran la resistencia de los capilares (vasos sanguíneos), evitando su ruptura, muy adecuados para prevenir un sangrado. En este campo los flavonoides que presentan mejores resultados con son la hesperidina, rutina y la quercetina.¹⁶
- k) Disminución del colesterol:** Los flavonoides presentan la capacidad de disminuir la producción del colesterol e inhibir la concentración de los triglicéridos en sangre.¹⁶

2.5.2 Ácidos fenólicos

Estos compuestos tienen una función carboxílica y un grupo hidroxílico fenólico, estos compuestos derivan del ácido benzoico (anisaldehído, vainillina, ácido verátrico, ácido anísico) y del ácido cinámico (caféico, ferúlico y sináptico). Las actividades más importantes atribuidas a los ácidos fenólicos es la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria.^{20, 25}

Los ácidos fenólicos tienen propiedades antisépticas urinarias, propiedades antiinflamatorias de los derivados salicílicos. Inhiben la 5-lipooxigenasa de granulocitos humanos, de ello resulta una inhibición en la formación de hidroperóxidos y leucotrienos que podrían justificar el empleo en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o alérgicas.^{20, 26}

Los ácidos fenólicos tienen gran importancia debido a su amplia actividad biológica como son: antioxidantes, antivirales, antitumorales, antifúngicos, antimutagénicos, hepatoprotectores, antiinflamatorias e inmuno estimulantes. La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos denominados ácidos de serie cinámica son más activos que los derivados del p-hidroxido del ácido benzoico debido a que poseen grupos OH y carbonilo no unidos directamente al anillo bencénico.^{20, 26}

2.6 Metabolitos secundarios

2.6.1 Taninos

Compuestos químicos que no forman cristales, al unirse con el agua forman soluciones coloidales de reacción ácida; los taninos en solución precipitan a las proteínas y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolítica; aplicados a los tejidos vivos, esta acción se conoce como astringente, las plantas con taninos se utilizan frecuentemente como antidiarreicas, tratamiento de heridas y quemaduras, favoreciendo la cicatrización de la mismas.²⁷

Los taninos también tienen acción antiinflamatoria, lo que hace posible lo siguiente: Protege de la piel lesionada de los irritantes, impide las exudaciones y secreciones de la mucosa.²⁷

2.6.2 Flavonoides (C₆-C₃-C₆)

Los flavonoides serie de metabolitos secundarios polifenólicos, son productos de la ruta biosintética¹⁹ del ácido fenilpropanóico, que intervienen en la formación de los pigmentos de los vegetales, intervienen en la foto protección frente a la radiación ultravioleta, en las defensas durante la interacción de la planta y el agente patógeno. Las diferentes especies que contienen a los flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas como: La acción de la vitamina P (factor antiescorbuto), antihemorrágico, anti arrítmicos, protectores de la pared capilar o vascular, antiinflamatorios, anti radicales libres, antihepatotóxicos, diuréticos y antirreumáticos, antiespasmódicos, antibacterianos, antiviral y antifúngico.²⁷

2.6.3 Cumarinas

Compuestos químicos distribuidos ampliamente en las plantas, encontrándose principalmente en las familias *Umbeliferae* y *Rutaceae*, se disponen en todas las partes de la planta desde la raíz hasta los frutos; estos metabolitos son los más

abundantes y que a menudo se presentan como mezclas glicósidas que están unidas a azúcares formando heterósidos, o en forma libre.²⁷

2.6.4 Triterpenos y esteroides

Los triterpenoides son terpenos compuestos por un esqueleto carbonado con seis unidades de isopreno, derivan biogénicamente del escualeno, hidrocarburo acíclico con 30 átomos de carbonos. Estos triterpenos constan de una estructura relativamente completa generalmente tetracíclicos o pentacíclicos y pueden contener grupos hidroxilo como el grupo cetona o aldehído y ácido carboxílico. Muchos triterpenos se encuentran bajo la forma de glicésidos formando las saponinas triterpenoides.²⁷

Los esteroides, biogénicamente están muy relacionados con los triterpenoides, y con un esqueleto cíclico base al igual que los triterpenoides tetracíclicos, de ciclopentano perhidrofenantreno, y son clasificados como esteroides ($C_{27}O$ más) y saponinas esteroidales (o sus agliconasapongeninas).²⁷

2.6.5 Saponinas

Las saponinas son glicósidos ditriterpenos y esteroides, son caracterizados por presentar espumas y formar parte de las soluciones jabonosas, en algunos extractos crudos de la planta se encuentran en abundancia y es usado como detergente, las espumas estables es usado en el área de producción para la elaboración de champús y otros productos cosméticos.²⁷

2.7 Farmacología de la inflamación

2.7.1 Concepto

La inflamación es la respuesta defensiva del organismo, ejerce acción sobre el agente irritante o infeccioso, se caracteriza por el movimiento de las células y fluidos desde la sangre hacia los tejidos extravasculares, este proceso se da en el lugar donde se inició el estímulo nocivo, bajo la influencia de factores quimiotácticos producidos localmente. El objetivo principal de esta reacción vascular es eliminar los agentes y tejidos lesionados. Estas respuestas inflamatorias están formadas por plasma, células circulantes, vasos sanguíneos y algunos constituyentes celulares del tejido conectivo. Los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, vasófilos y plaquetas, son incluidos en las células circulantes. Los mastocitos son células del tejido conectivo que rodean a los vasos sanguíneos y a los fibroblastos.²⁰

La inflamación es la expresión de las alteraciones que se producen en respuesta a una lesión o agresión hacia tejido, pudiéndose describir empleando palabras

latinas originales: dolor, rubor, calor y tumor. Estos signos aparecen como consecuencia de la alteración local de los vasos sanguíneos que conducen a una vasodilatación, dándose el aumento de la permeabilidad en la báscula capilar y un aumento de la receptividad hística por los leucocitos, fenómeno que dan lugar a un cúmulo de células inflamatorias en un lugar de la lesión. Los leucocitos polimorfos nucleares, neutrófilos y los macrófagos son las principales células que participan en una respuesta antiinflamatoria aguda. Asimismo se produce un cúmulo de linfocitos, basófilos y eicosanoides, especialmente de ciertos tipos de inflamación. Las respuestas inflamatorias son producidas y controladas por una amplia gama de mediadores de la inflamación, muchos de ellos son derivados de los tejidos. Ejemplos claros de los mediadores inflamatorios: histamina, cininas (bradicinina), neuropéptidos (sustancias P, es un péptido relacionado con el gel de la calcitonina), cintoninas y los metabolitos del ácido araquidónico (eicosanoides).²⁷

En respuesta a los múltiples estímulos agresivos, los eicosanoides son liberados y contribuyen a los síntomas de la inflamación en sus primeras dos fases: La primera fase es la vasodilatación aguda que se ve acompañada de un incremento en la permeabilidad e infiltración de leucocitos y células fagocíticas; estas células a su vez son convenientemente estimuladas generando y liberando más eicosanoides. La segunda fase se da cuando los derivados de la vía ciclooxigenasa, fundamentalmente (prostaglandinas del tipo E y PG12) favorecen la vasodilatación prolongada y el aumento del flujo sanguíneo en la microcirculación, y al mismo tiempo potencian la acción de otros mediadores, como bradicinina y serotonina, que poseen la capacidad de incrementar la permeabilidad vascular y activar las terminaciones nerviosas.²⁸

Los derivados de la vía lipooxigenasa se forman y son liberados en neutrófilos, eosinófilos y macrófagos convenientemente estimulados. El LTB₄ ejerce una poderosa actividad quimiotáctica favoreciendo la concentración de neutrófilos, desgranulación, agregación y adherencia a las paredes de las vénulas y capilares.²

2.7.2 Pasos del proceso inflamatorio

El proceso inflamatorio inicia al dilatarse los capilares, arteriolas locales, ese proceso genera el exceso de flujo sanguíneo local, además la vasodilatación es inducida por numerosos mediadores químicos, que a su vez son producidos por la célula del tejido circundante, como: La histamina, ciertas prostaglandinas

(PGE₂, PGI₂, PGE₁) y el factor activador de plaquetas. Otro fenómeno que sucede es el incremento de la permeabilidad en las paredes de las vénulas poscapilares locales, favoreciendo al paso de un volumen de líquido a los espacios intersticiales. Ingresan grandes cantidades de agua, fibrinógeno, inmunoglobulinas hacia el espacio intersticio. El ingreso de proteínas aumenta la presión oncótica, la salida del agua clínicamente provoca un edema localizándose en el área dónde se produjo la lesión, y el aumento de la permeabilidad vascular es favorecido por la acción principal de la histamina y las prostaglandinas PGE₂ y PGI₁.²⁰

2.7.3 Medidores de la inflamación

Tenemos a los mediadores de inflamación a la histamina, serotonina, cininas, prostaglandina y leucotrienos.²

a. Histamina

Se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos y abunda en los gránulos de las células cebadas presentes en el tejido conjuntivo adyacente de los vasos sanguíneos. También se observa a la histamina en los basófilos y plaquetas de la sangre, y es liberada por degradación de las células en respuesta a diversos estímulos de la inflamación (lesiones físicas como frío y calor, y reacciones inmunitarias que producen unión y fijación de anticuerpos). En el ser humano, la histamina da lugar a una dilatación a nivel de las arteriolas y un incremento de la permeabilidad vascular de las vénulas; sin embargo se da una constricción en las arterias de mayor diámetro. La histamina es considerada como el inmediato mediador en la fase de incremento de la permeabilidad vascular, produciéndose la contracción y ensanchamiento de las uniones entre células endoteliales de las vénulas, actúa sobre la microcirculación principalmente a través de los receptores H₁.²⁷

b. Serotonina (5-HT)

También conocida como 5 – hidroxitriptamina, es un autacoide que se forma en el organismo a partir del aminoácido triptófano y se deposita principalmente en las plaquetas en donde es liberado durante el proceso inflamatoria. La serotonina en la inflamación también contribuye a la producción de la vasodilatación y por ende aumenta la permeabilidad capilar. Generalmente las drogas antiserotonínicas actúan muy poco como antiinflamatorio. También contribuyen en la producción de dolor inflamatorio (junto con la histamina).²⁷

c. Metabolismo de ácido Araquidónico: Prostaglandinas y Leucotrienos

El ácido araquidónico (AA) o también llamado eicosatetraenoico, es un ácido graso poliinsaturado con 20 átomos de carbono (ácido 5, 8, 11, 14 - eicosatetraenoico), procede directamente de la dieta o de la conversión a partir del ácido graso esencial, el ácido linoléico. Se libera de los fosfolípidos por activación de la fosfolipasas celulares a través de estímulos mecánicos, químico y físicos o por acción de otros mediadores.²⁷

La vía de la ciclooxigenasa permite la generación de prostaglandinas que incluyen la PGE₂, PGD₂, PGF₂, PGI₂ (prostaciclina) y tromboxano (TXA₂), todas estas se forman por acción de una enzima específica. El TXA₂ es un potente agente de agregación plaquetaria y vasoconstricción que presenta poca estabilidad y se convierte rápidamente en su forma inactiva TXB₂.²⁰ El endotelio vascular posee la prostaciclina sintetasa que da lugar a la formación de prostaciclina (PGI₂), este último es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria.²⁷

Por la vía de la lipooxigenasa, la enzima predominante en los neutrófilos es la 5-lipooxigenasa. El principal producto es el – HETE, con capacidad quimiotáctica para neutrófilos, que es convertido en una familia de compuestos denominados leucotrienos como LTB₄, potente agente quimiotáctica que induce a la agregación de neutrófilos, el LTC₄, LTD₄ y LTE₄, producen una vasoconstricción, broncoespasmo y por ende se da el aumento de la permeabilidad vascular.²⁷

2.8 Tipos de inflamación

- **Inflamación aguda:** Es de duración corta, se inicia muy rápidamente, se caracteriza por el exudado de fluido plasmático y se produce la acumulación de neutrófilos por el exudado de fluido plasmático y se produce la acumulación de neutrófilos, hay vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar.²⁰
- **Inflamación crónica:** Se da cuando el estímulo inflamatorio es persistente y ocasiona la destrucción del tejido o puede causar la pérdida de la función del órgano afectado. Lo más común en una inflamación crónica es que el infiltrado de las células inmunes está compuesto por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.²⁰
- **Inflamación granulomatosa:** Es una variedad específica de inflamación crónica, se caracteriza por que el agente causal se digiere de manera deficiente y no suelen controlarse con facilidad mediante otros mecanismos antiinflamatorios. También se evidencia cúmulos de macrófagos activados, a

menudo con linfocitos T, y a veces se le encuentra asociada a necrosis central. De manera típica un granuloma es una lesión pequeña de 1 a 2mm, dónde existe una acumulación de macrófagos circundados por linfocitos. Estos macrófagos modificados se asemejan a las células epiteliales y muchas veces lo denominan células epitelioides.²⁹

2.8.1 Mecanismo de acción de la actividad antiinflamatoria

El efecto antiinflamatorio de los Aines se le atribuye por poseer la capacidad inhibitoria a la ciclooxigenasa, enzima catalizadora de la síntesis de prostaglandina, prostaciclina y tromboxano, la síntesis se da a partir del ácido araquidónico. Como se sabe, estos mecanismos es importante para la producción del efecto terapéutico y muchas manifestaciones adversas, sin embargo no es el único mecanismo, ya que otros fármacos que tienen la misma capacidad inhibitoria de la COX pero difieren de la potencia antiinflamatoria.²⁷

Otro del posible mecanismo involucrado en el efecto antiinflamatorio de los Aines es la inhibición del óxido nítrico, inhibición en el proceso de migración leucocitaria, se da la disminución en la producción de leucotrienos e inhiben la fosfodiesterasa, con la consecuente disminución de C-AMP.²⁷

2.8.2 Clasificación de antiinflamatorios no esteroideos (Aines)

Los antiinflamatorios son clasificados, según las actividades que se ejerce sobre las enzimas ciclooxigenasas (COX – 1 y COX – 2), en: ²⁷

- a. Inhibidores COX no específicos:** Actúan por igual sobre COX – 1 y COX – 2, son considerados a la mayoría de los Aines clásicos como: Naproxeno, ibuprofeno e indometacina.²⁷
- b. Inhibidores específicos del COX – 1:** Estos medicamentos inhiben la actividad del COX – 1, de manera que no afecte de forma mensurable a la actividad del COX – 2: El único representante de este grupo es el ácido acetil salicílico (aspirina), en dosis muy bajas inhiben la actividad del COX – 1 a nivel plaquetario.²⁷
- c. Inhibidores preferenciales del COX – 2:** Estos fármacos tienen mayor actividad sobre el COX – 2, más que en el COX – 1. En evaluaciones bioquímicas, se requieren concentraciones de 2 a 100 veces mayores para poder inhibir al COX – 1, a diferencia de las dosis requeridas para inhibir al COX – 2. Entre estos es considerado al Meloxicam, por que posee una considerable actividad inhibitoria del COX – 1, comparados con los nuevos agentes COX – 2 selectivos.²⁷

d. Inhibidores específicos del COX – 2: Estos fármacos en concentraciones plasmáticas y dentro del rango terapéutico, inhiben al COX – 2 pero más no al COX – 1. En algunas evaluaciones bioquímicas se requieren concentraciones mayores a 100 veces para inhibir al COX – 1 que las requeridas para inhibir al COX – 2 (ANEXO 18).²⁷

Los Aines engloban un amplio grupo de fármacos que se clasifican dentro de los siguientes grupos: ²⁰

- **Salicilatos:** Ácido acetilsalicílico (AAS), diflunisal, saicilato sódico, acetilsalicilato de lisina, trisalicilato de magnesio, sulfasalacina, etc.²⁰
- **Ácidos propiónicos:** Ibuprofeno, Naproxeno, fenaprofeno, ketoprofeno, flurbprofeno, ácido tioprofénico, etc.²⁰
- **Ácidos acéticos:** Indometacina, oximetacina, sulindaco, tolmitina; ketorolaco, diclofenaco, aceclofeno, etodolaco, etc.²⁰
- **Ácidos antranílicos:** Ácidos mefenámico, meclofenámico, flufenámico, etc.²⁰
- **Oxicams:** Piroxicam, Meloxicam, tenoxicam, pivoxicam, ampiroxicam, etc.²⁰

2.9 Método de edema plantar, inducido con carragenina en rata

Este método consiste en administrar por vía subcutánea una pseudo solución del carragenano (carragenina), extraída de las algas marinas *Chondrus crispus*; al ser aplicada a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provoca una reacción de índole inflamatorio agudo, en respuesta a dicha reacción se produce la liberación de diversos autacoides como la histamina, serotonina, bradicinina y prostaglandina, generando además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta como edema, eritema y dolor.⁷

2.10 Indometacina

2.10.1 Descripción

La IM (2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il] ácido acético), es un medicamento del tipo antiinflamatorio no esteroideo (AINE), pertenece a la familia de los derivados del ácido indolacético, su estructura química es representada en la Figura 2. Es un polvo cristalino blanco amarillento fotosensible a la luz, posee una baja solubilidad en agua (solubilidad = 0,937 mg/L) [96, 97] e hidrocarburos pero soluble en disolventes orgánicos como, DMSO (solubilidad = 17,5 mg/mL) y EtOH (solubilidad = 20 mg/mL) [98]. En

disolución de EtOH presenta tres máximos con λ_{\max} a 230, 260 y 319 nm. En disolución acuosa presenta dos máximos con λ_{\max} a 265 nm y 320 nm [99] y un $pK_a= 4,5$ del ácido carboxílico [100].³¹

2.10.2 Química del fármaco

Es un derivado indólico metilado, es un potente antiinflamatorio no esteroideo (AINE) no selectivo utilizado desde 1965.¹⁹

El grupo carbonilo en la posición 3 le confiere la acidez a la molécula y por ello le da una mayor potenciación antirreumática, mientras que el grupo arilacilo en la posición 1, el metoxilo en la posición 5 y la presencia del halógeno en la posición para del grupo 1 - benzoilo, son en gran parte los responsables de su actividad antiinflamatoria por que inhiben la producción de las prostaglandinas, ya que estos grupos forman puentes de hidrógeno que retardan su absorción y prolongan su efecto.¹⁹

2.10.3 Estructura química

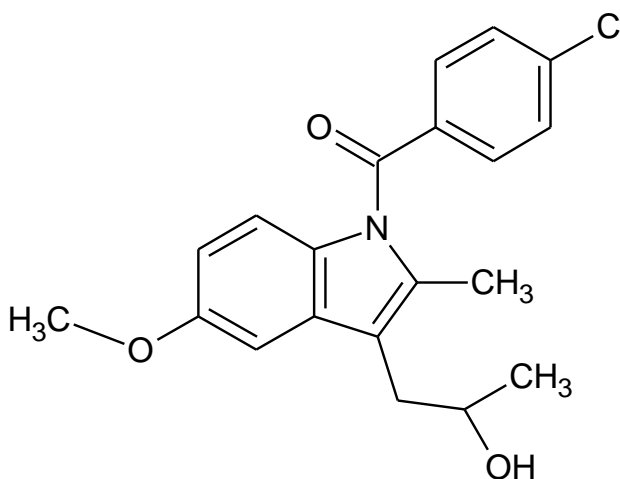


Figura 2. Representación de la estructura química de Indometacina (2-[1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il] ácido acético).³¹

2.10.4 Mecanismo de acción

La indometacina es un potente inhibidor de la vía COX, con mayor afinidad al COX - 1, inhibiendo la síntesis de prostaglandinas. La producción de renina es reducida por parte de las células yuxtglomerulares, dando como resultado efectos muy importantes sobre la presión arterial. Esta actividad antiinflamatoria fue demostrada por primera vez en animales experimentales con el método del edema sub plantar inducido con carragenina, con el fin de medir la capacidad inhibitoria en la formación de los granulomas.¹⁹

2.10.5 Farmacocinética y farmacodinamia

La indometacina administrada por vía oral presenta una buena biodisponibilidad, sin embargo hay otra vía de administración y es usada con menor frecuencia, es la vía rectal, el fármaco bajo la forma de supositorio es absorbido por la mucosa rectal. Una vez absorbida, el fármaco alcanza a las concentraciones máximas entre 1 o 2 horas y se fusiona a las proteínas plasmáticas en un 90%. La concentración del fármaco en el líquido cefalorraquídeo es mínima, sin embargo la concentración en el líquido sinovial es igual al del plasma sanguíneo, y es expresado en cuestión de 5 horas después de su administración.¹⁹

2.10.6 Principales indicaciones y posología

Es indicado para el alivio del dolor en: Artritis reumatoide, osteoartritis, spondilitis anquilosante, alteraciones musculo esqueléticas agudas (bursitis, tendinitis, sinovitis, etc.), también es utilizado en procesos inflamatorios muy consecutivos, intervenciones quirúrgicas, gota aguda, síntomas de la dismenorrea primaria.

Modo de administración: Rectal: 50-100 mg/día. Vía oral: Administrar con alimentos, leche o un antiácido. Formas no retard: recomendada: 50-200 mg/día (2-4 tomas). Procesos crónicos iniciar con 25 mg/8-12 h aumentar progresivamente; máx. 200 mg/día. Gota aguda: 50 mg/8 h. Procesos agudos: 25 mg/6-8 h. Dismenorrea primaria: 25 mg/8 h. Formas retard: 75 mg/día, máx. 75 mg/12 h.³²

2.10.7 Contraindicaciones

La indometacina no se usa en pacientes con hipersensibilidad al producto; úlcera péptica duodenal activa o antecedentes de ulceración gastrointestinal recurrente; gestante; lactancia; niños menores de 14 años. Tampoco en pacientes con proctitis (rectal).³²

2.10.7.1 Interacciones

- La concentración plasmática del Ácido acetil salicílico (AAS) se encuentra reducido por el uso frecuente o regular de la indometacina.³²
- Los niveles plasmáticos de la indometacina es incrementado por el probenecid y diflunisal.³²
- Los: β -bloqueantes, diuréticos tiazídicos, furosemida y el captopril, son reducidos sus efectos hipotensores por la acción concomitante de la indometacina.³²
- La indometacina aumenta considerablemente los niveles sanguíneos del litio.³²

2.10.7.2 Reacciones adversa

La administración de la indometacina a dosis terapéutica, los pacientes presentan algunos síntomas como cefalea, mareos, aturdimiento, depresión, vértigo y fatiga, náuseas, anorexia, vómitos, molestias epigástricas, dolor abdominal, estreñimiento, diarrea, ulceraciones en esófago, duodeno e intestino delgado, hemorragia gastrointestinal sin evidencia de úlcera y aumento del dolor abdominal en pacientes con colitis ulcerosa preexistente.³²

La INDOMETACINA administrada a pacientes con antecedentes de terapia digitálica (Digoxina) puede prolongar la vida media de la digoxina, y ser potenciando sus efectos adversos.³³

Dermatológicas: Podría producir prurito, urticaria, petequias y equimosis. Raramente se podría producir una dermatitis exfoliativa, eritema nodoso, alopecia, síndrome de Stevens-Johnson y síndrome de Lyell.³³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del trabajo de investigación

El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses marzo a agosto del 2020.

3.2 Materiales

3.2.1 Población: Hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, que fueron recolectadas en el valle de Muyurina a 12 Km de Huamanga, a una altitud de 2,150 m.s.n.m.

3.2.2 Muestra: Cinco kilos de hojas secas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Una parte de la planta recolectada se llevará para la identificación botánica por la Blga. Laura Aucasime Medina del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1), para su respectiva identificación y su clasificación botánica.

3.2.3 Muestreo: El muestreo se realizó por conveniencia teniendo en cuenta el buen estado de las hojas.

- **Criterio de inclusión:** Hojas en buen estado y sin estado de floración.
- **Criterio de exclusión:** Hojas en mal estado y en estado de floración.

3.2.4 Unidad de análisis

Flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.

3.2.5 Unidad experimental

Las 40 ratas albinas machos de la cepa Holtzman en un buen estado de salud, de 3 meses de edad y con pesos comprendidos entre 210 a 250 g de peso corporal,³⁰ adquiridos del laboratorio de evaluación nutricional de alimentos de la Universidad Nacional agraria La Molina de la ciudad de Lima, con un mes de anticipación para su acondicionamiento respectivo.

3.2.5.1 Aclimatación

Los animales de experimentación se aclimataron como mínimo dos días antes del experimento en jaulas de metal llenos de viruta de madera; se mantuvieron en condiciones estándares de iluminación y temperatura con el fin de evitar el efecto estrés, contaron con un alimento balanceado y con agua a libertad.

3.2.5.2 Pesaje y distribución

Luego se pesaron, codificaron y luego fueron distribuidas al azar en 5 grupos con 8 animales por grupo; teniendo en cuenta el siguiente diseño: Grupo I: Carragenina al 1% (constituyó el grupo control y sirvió para realizar la curva de carragenina), Grupo II: Indometacina (constituyó el grupo estándar, sirvió como parámetro de referencia o testigo para evaluar el efecto y la eficiencia antiinflamatoria del fármaco, Grupo III, IV y V: Muestra problema (constituyó el grupo de las concentraciones del flavonoide aislado).

3.2.6 Fármaco de referencia

Indometacina 25 mg de Laboratorio IQ FARMA.

3.3 Diseño metodológico para la recolección de datos

El tipo de investigación fue Básico – Experimental.

3.3.1 Procedimiento para la recolección de la muestra

3.3.1.1 Selección de la muestra

Para la recolección de la muestra o droga vegetal, se seleccionó áreas verdes del valle de Muyurina situado a 12 Km de Huamanga. La recolección se realizó durante los meses de febrero y marzo del año 2020, en horas de la mañana en un clima templado. Una parte de esta planta se llevó para su respectiva identificación taxonómica, determinándose así como *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, certificada por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (2017) (Anexo 1).

3.3.1.2 Toma de muestra

- Se procedió a recolectar manualmente la planta completa con mejor apariencia y follaje para luego seleccionar las partes aéreas (hojas) de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.³
- Luego se procedió a eliminar cualquier material extraño, que pueda contaminar y afectar la calidad de la droga vegetal.³

3.3.1.3 Preparación de la muestra

- La limpieza se la realizó mediante un enjuague con agua potable, seguidamente se introdujo en la solución de hipoclorito de sodio al 0,5% por un periodo de 5 minutos y por último se enjuagó con agua destilada, de esta manera se elimina cualquier tipo de microorganismo o sustancias contaminantes.³
- Luego del lavado se colocaron sobre pliegos de papel filtro en los desecadores al ambiente durante 12 horas.³
Luego se procedió a desojar las hojas, una vez ya deshojadas se llevaron a desecación en estufas diferentes a 40°C hasta tener una desecación completa.³

3.3.1.4 Molienda de la muestra

Se procedió a la reducción de tamaño de partículas de las hojas secas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” haciendo uso de una licuadora marca Oster® hasta obtener partículas finas. Al evidenciarse aún partículas muy gruesas, estas fueron separadas con un tamiz de 1 mm de trama para garantizar la homogeneidad de la muestra en cada proceso experimental.³⁴

3.3.2 Preparación del extracto hidroalcohólico al 80%

Se pesó aproximadamente 5 kilos de hojas secas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, en la balanza analítica, previamente las hojas fue pulverizada, luego la muestra se vertió a un frasco de color ámbar, seguidamente se le añadió tres litros de etanol al 80%. Para obtener una extracción hidroalcohólica homogénea de la muestra se agitó el frasco periódicamente por siete días. Luego se pasó a filtrar y nuevamente se volvió a macerar la muestra con tres litros de etanol al 80% por otra semana (realizando una doble extracción),³⁵ de esta manera se logró optimizar el proceso de extracción de los principios activos. Posteriormente se filtró el extracto hidroalcohólico por separado y luego se reunió los filtrados, obteniendo así a la solución hidroalcohólica total; seguidamente se procedió a concentrar al extracto hidroalcohólico a una presión y temperatura reducida en el equipo evaporador rotatorio BUCHI 3000.³⁵ Una vez concentrado se procedió a desecar la muestra hasta llegar a sequedad en la estufa a una temperatura no mayor de 50°C.³⁶

3.3.3 Identificación de la composición química cualitativa del extracto

Extracto hidroalcohólico obtenido se utilizó para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, siguiendo el método de Miranda y Cuellar.³⁷

3.3.3.1 Tamizaje fitoquímico: La identificación preliminar de los compuestos químicos presente en la muestra, fue desarrollada mediante los procedimientos establecidos para cada metabolito secundario.⁵

3.3.3.2 Pruebas de identificación para el flavonoide en la fracción del extracto hidroalcohólico

- **Reacción de Shinoda:** A un tubo de ensayo se procedió a colocar 2 mL del extracto hidroalcohólico reconstituido con agua destilada, luego se le adicionó granallas de magnesio metálico y 0,3 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se dejó reposar por 10 minutos. La reacción fue positiva dando una coloración rojiza.¹⁸
- **Reacción del hidróxido de sodio al 20%:** A un tubo de ensayo se procedió a colocar 1 mL del extracto, luego se adicionó 1 mL de la solución de hidróxido de sodio al 20%, la reacción dio positivo dando una coloración amarillo pálido.¹⁸

3.3.4 Técnica de extracción de flavonoides

El extracto seco obtenido anteriormente fue suspendido en agua destilada, luego se procedió a desengrasar con éter de petróleo (con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que puedan interferir con la extracción de los flavonoides). Luego se procedió a realizar una extracción de líquido – líquido con doscientos cincuenta mililitros de acetato de etilo utilizando un embudo de separación, se dejó reposar por un periodo de 24 h, finalmente para poder recuperar la fracción de acetato de etilo, se procedió a evaporarla hasta llegar a sequedad.^{38, 39}

Una fracción de la muestra obtenida se concentrará con agua destilada para efectuar el ensayo de identificación de flavonoides.³⁹

3.3.5 Identificación de los flavonoides presente en las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.

La reacción de identificación del metabolito secundario del extracto se realizó mediante el ensayo de shinoda siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda.^{39, 40}

Los flavonoides se concentraron en la fracción del acetato de etilo, el mismo que se evidenció con la prueba de Shinoda.¹

3.3.5.1 Reacción de Shinoda: De la fracción del acetato de etilo, se separó una mínima cantidad hacia un tubo de ensayo en donde se agregó un pequeño trozo de cinta de Mg, seguido por gotas de HCL concentrado; en donde se observó una coloración rojo ladrillo.^{1, 41}

3.3.5.2 Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico: ¹

- **Fase estacionaria:** Es una placa cromatográfica de 20 x 20 cm, conteniendo sílicagel G 254 (Merk).^{1, 42}
- **Fase móvil:** Butanol: Ácido acético: agua (4:1:5) mL.^{1, 42}
- **Volumen de inyección:** 20 uL.^{1, 42}
- **Revelador:** Luz ultravioleta, cloruro férrico.^{1, 42}

Se tomó una alícuota de la fracción del acetato de etilo y se disolvió en 1 mL de metanol, luego se procedió aplicar el sembrío de la muestra haciendo de un capilar de vidrio comenzando por la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria), luego se colocó la placa de CCF en la cámara teniendo mucho cuidado de que el solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5) no sobrepase a la muestra aplicada y dejándose que el líquido ascienda por capilaridad. Transcurrido el tiempo necesario del recorrido de la muestra se procedió a sacar la placa cromatográfica teniendo en cuenta que el solvente llegue hasta los 2 cm de la parte superior de la placa, se dejó secar la placa de CCF al aire libre y se observó en la lámpara UV CAMAG a 366 nm,⁴² finalmente se reveló con cloruro férrico al 1%. Por otra parte la siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los flavonoides, estas bandas fueron recuperadas, disueltas en metanol y filtrado, los cuales se evidenció en la luz ultravioleta.¹

3.4 Determinación de la actividad antiinflamatoria

La fracción del acetato de etilo, se utilizó para determinar la actividad antiinflamatoria.³⁸

3.4.1 Método del edema plantar inducida con carragenina

- **Procedimiento:** Antes del experimento, las 40 ratas estaban en **ayunas** por 24 horas, dejándolos solo con agua *ad libitum*,⁴³ luego las ratas fueron distribuidas de manera aleatoria en 5 grupos con 8 animales por grupo.

- **Preparación de la muestra:** Se diluyó 2 g de los flavonoides aislados totales en 100 mL de carboximetilcelulosa al 0.1%, obteniéndose una concentración al 2%.⁴²
- **Preparación de la suspensión de carragenina:** La suspensión de carragenina al 1% (Laboratorios SIGMA), fue preparado por disolución de 1 g de carragenina en 100 mL de carboximetilcelulosa al 0,1%.⁴²
- **Preparación del fármaco de referencia (estándar):** Se diluyó cinco tabletas de indometacina (25 mg) de (Laboratorio IQ FARMA) en 50 mL de solución carboximetilcelulosa al 0,1%.⁷

3.4.2 Ensayo biológico: El manejo de los animales se realizó de acuerdo con los principios éticos para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El CIEA está registrado en la OLWA (Office of Laboratory Animal Welfare), con el código A5146-01.⁴³

También siguiendo a los lineamientos establecidos por Guide for the care and use of laboratory animals del National Institute of Health y la ley venezolana para la Protección de la Fauna Doméstica Libre y en Cautiverio.⁴⁴

Procedimiento: Previo al experimento los animales experimentales estuvieron en ayunas.

- Las diferentes concentraciones del flavonoide aislado de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” fueron sometidos a la evaluación del efecto antiinflamatorio.
- Los animales experimentales (ratas Holtzman) se dividieron utilizando el diseño completamente aleatorizado, formando cinco grupos de ocho repeticiones cada una.
- Dichos grupos experimentales se marcaron con violeta de genciana en sentido horario, de la siguiente manera: Grupo 1 marcado en la pata superior derecha, Grupo 2 marcado en la pata inferior derecha, Grupo 3 marcado en el lomo, Grupo 4 marcado en la pata inferior izquierda y el Grupo 5 marcado en la pata superior izquierda.
- De cada grupo experimental se precedió a pesar individualmente a los animales en experimentación y se colocaron en jaulas individuales.
- Luego se precedió depilar la pata posterior derecha de la rata, y luego se marcó con plumón indeleble a la altura del tarso para facilitar la medición del volumen de la pata de la rata.

- Luego se procedió a medir los volúmenes normales de la pata inferior derecha de las ratas de todos los grupos, haciendo uso del equipo pletisnómetro digital.

A las ratas del:

Grupo I: Se les administró Carboximetilcelulosa al **0,1%** en un volumen de 1 mL por vía oral, empleando una jeringa de 3 mL adaptada a una sonda metálica con previa lubricación de la vaselina, transcurridos 30 minutos se procedió a la administración de 0,1 mL de la solución carragenina al 0,1%, por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata.⁴⁵

Grupo II: Se les administró una dosis del agente antiinflamatorio indometacina **25 mg/kg** en un volumen de 0,6 mL por vía oral, empleando una jeringa de 3 mL fue adaptada a una sonda metálica con previa lubricación de la vaselina, transcurridos 30 minutos, se procedió a la administración de 0,1 mL de la solución carragenina al 0,1%, por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata.⁴⁵

Grupo III: Se les administró los Flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L., a concentración de **50 mg/kg** en un volumen de 0,4 mL por vía oral, empleando una jeringa de 3 mL adaptada a una sonda metálica con previa lubricación de la vaselina, transcurridos 30 minutos, se procedió a la administración de 0,1 mL de la solución carragenina al 0,1 %, por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata.⁴⁵

Grupo IV: Se les administró los Flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. a concentración de **100 mg/kg** en un volumen de 0,8 mL por vía oral, empleando una jeringa de 3 mL adaptada a una sonda metálica con previa lubricación de la vaselina, transcurridos 30 minutos se procedió a la administración de 0,1 mL de la solución carragenina al 0,1%, por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata.⁴⁵

Grupo V: Se les administró los Flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L., a concentración de **200 mg/kg** en un volumen de 1 mL por vía oral, empleando una jeringa de 3 mL adaptada a una sonda metálica con previa lubricación de la vaselina, transcurridos 30 minutos, se procedió a la administración de 0,1 mL de la solución carragenina al 0,1%, por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata.⁴⁵

Una hora después se realizó las mediciones sucesivas del volumen de inflamación de las patas durante 5 horas continuas con ayuda del Pletisnómetro Digital. La inflamación se cuantificó midiendo el volumen de inflamación de las patas a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la inyección de la carragenina 1%. La diferencia entre el volumen inicial (pata inferior derecha sin inyección de carragenina) y el volumen final (misma pata inferior derecha con inyección de carragenina) es una prueba fehaciente del grado de inflamación.⁴⁶

Cálculo del porcentaje del volumen de inflamación: Para el cálculo del porcentaje de inflamación se utilizó la siguiente fórmula: ⁴⁶

$$\% \text{ inflamación} = \frac{(V_t - V_o)}{V_o} \times 100$$

Dónde:

V_t: Volumen de la pata inflamada en un tiempo "x".⁴⁶

V_o: Volumen de la pata normal (antes de la aplicación de carragenina).⁴⁶

Los datos que se obtuvieron de los lotes experimentales se expresaron como los promedios y la media del error estándar.⁴⁶

Cálculo del porcentaje de eficiencia antiinflamatoria: Para calcular el porcentaje de inhibición de la inflamación se calculó la media de los incrementos de volumen de cada lote para cada tiempo y se aplicó la siguiente fórmula: ⁴⁶

$$EA\% = \frac{(\Delta C/C_o - \Delta V/V_o)}{\Delta C/C_o} \times 100$$

Dónde:

EA%: Eficiencia antiinflamatoria expresado en porcentaje, es la disminución del volumen de inflamación expresado en forma de porcentaje, y se da para cada momento de la observación experimental.²⁷

$\Delta C/C_o$: Es el incremento del volumen del edema ocasionado por el blanco (carragenina) en relación al volumen inicial (C_o) en mililitros, (**C_o**: Medida del volumen de la pata normal expresada en mL).²⁷

$\Delta V/V_o$: Es el incremento estandarizado del volumen del edema producido por carragenina, menguado por un agente antiinflamatorio, entonces todas las mediciones son relativas, esto en un porcentaje.²⁷

3.4.3 Técnica de medición:

- Se preparó el equipo Pletisnómetro Digital LE 7500 en una zona segura para su ejecución de la investigación.⁴⁷
- Se enrazó la vasija volumétrica con la solución de (NaCl al 0,2% más 15 gotas de TRITÓN), esta solución es para un litro de volumen final, con la finalidad de evitar la tensión superficial.⁴⁷
- Se procedió al encendido de la UNIDAD DE CONTROL (LE 7500), y se observó que se encendió el LED HOLD y tras unos instantes el DISPLAY que quedó a 0,00.⁴⁷
- Luego se giró la válvula para que entre la solución en la VASIJA VOLUMÉTRICA, hasta que la solución haya llegado a la marca de la VASIJA VOLUMÉTRICA.⁴⁷
- Luego se pulsó el botón ZERO para indicar el punto de partida (0 mililitros de volumen).⁴⁷
- Luego se retiró el calibre de 1 mL de la VASIJA VOLUMÉTRICA y se pulsó el botón ZERO para indicar el nivel que equivale a volumen 0.⁴⁷
- Posteriormente se procedió a la calibración el equipo introduciendo el calibre de 3 mL y se pulsó el botón CALIBRATION, el DISPLAY marcó 3.00.⁴⁷
- Se retiró el calibre de la VASIJA VOLUMÉTRICA, el DISPLAY debe indicar 0,00.⁴⁷
- Estando el DISPLAY en 0,00 se introdujo la pata inflamada en la VASIJA VOLUMÉTRICA hasta coincidir con la marca de la pata y la VASIJA VOLUMÉTRICA.⁴⁷
- Luego se presionó el PEDAL para memorizar la lectura y enviarla al PC. La lectura del DISPLAY quedó fija.⁴⁷
- Luego se volvió a presionar el PEDAL para liberar el DISPLAY. Si ha variado el nivel de líquido debe fijarse el nivel cero de nuevo con el botón ZERO.⁴⁷
- Para lograr mayor precisión se puede volver a calibrar el equipo al cabo de un tiempo.⁴⁷
- Una vez concluido con el procedimiento experimental, se procedió a apagar la UNIDAD DE CONTROL, luego se procedió a vaciar la UNIDAD SENSORA.⁴⁷
- Luego se retiró el RECIPIENTE y se debe situarlo en una posición inferior a las vasijas, válvula para que las Vasijas se vacíen en el RECIPIENTE, luego se cerró la válvula de paso, y se retiró la válvula de las vasijas, luego se

vació el RECIPIENTE a través de la válvula en la botella que contenía la solución salina para su posteriores usos.⁴⁷

- Una vez vacíos las Vasijas y el Recipiente, se retiró el electrodo de platino y se limpió cuidadosamente con agua destilada.⁴⁷
- Se dejó secar al aire el electrodo (nunca se debe secar con un paño ya que el electrodo se deforma fácilmente y perdería su linealidad en las medidas).⁴⁷
- Una vez seco, se situó el electrodo en su posición inicial en la VASIJA SENSORA.⁴⁷

3.5 Diseño experimental

La determinación del efecto antiinflamatorio se realizó utilizando un diseño completamente Randomizado con estímulo creciente.

El diseño únicamente fue empleado con postprueba y grupo control. De forma simbólica y abreviada corresponde a:⁴⁸

$$\begin{array}{ccc} \mathbf{RG}_n & \mathbf{X}_n & \mathbf{O}_n \\ \mathbf{RG}_c & \mathbf{—} & \mathbf{O}_c \end{array}$$

Dónde:⁴⁹

RG: Representa a los grupos experimentales organizados de forma aleatoria.

X: Es el tratamiento o estímulo experimental.

O: Es la observación, y

–: Es la ausencia del estímulo.^{49, 50}

Los ensayos se realizaron comparando 5 tratamientos de dosis (50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, control 1% y 25 mg/kg del estándar). Cada tratamiento estuvo constituido por 8 repeticiones para cada grupo, a las que se administraron las dosis respectivas, el blanco (suero fisiológico 0,9 %), estándar (indometacina 25 mg/kg) y control (carragenina al 1%).

Tabla 2: Diseño experimental de los tratamientos a distintas dosis, de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, Ayacucho – 2020.^{2, 36}

Grupos	Blanco	Estándar	Concentración de los flavonoides		
	Carragenina 1 %	Indometacina 25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
1	x				
2		x			
3			x		
4				x	
5					x

Fuente: Elaboración propia.

3.6 Análisis estadístico

Para el análisis de la efectividad antiinflamatoria, los datos se presentaron organizados en una matriz para calcular la media y la desviación estándar, asimismo los resultados se expresaron en forma de cuadros, gráficos de histogramas y barras de error, dichos resultados fueron evaluados estadísticamente utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 22. La diferencia significativa que existe entre los distintos tratamientos fueron evaluados a través del modelo de Análisis de Varianza (ANOVA), y para poder determinar las diferencias significativas entre los diferentes ensayos se trabajó con un nivel de significancia estadística del 95% ($p < 0,05$) y la Prueba de HSD de Tukey.

IV. RESULTADOS

Tabla 3: Metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

Metabolitos secundario	Ensayo	Resultado	Observación
Alcaloides	Dragendorff	+	Hay opalescencia
	Mayer	++	
	Wagner	+++	
Lactonas y/o Cumarinas	Baljet	++	Precipitado pardo anaranjado
Quinonas	Borntrager	+	Coloración roja tenue en la fase amílica
Catequinas	Catequinas	+++	Coloración del halo (verde carmelita) a la luz UV
Resinas	Resinas	++	Pequeñas partículas suspendidas en el fondo
Azúcares reductores	Fehling	+	Precipitado color naranja
	Benedict	++	
Saponina	Espumas	+++	Espuma alcanza 9 mm por 15 minutos
Taninos	Cloruro férrico	+++	Negro pardusco
Aminoácidos	Ninhidrina	+++	Precipitación azul oscura
Flavonoides	Shinoda	+++	Color rojo ladrillo
Antocianidinas	Estructuras C6-C3-C6	+++	Coloración naranja en la fase amílica
Cardenólidos	Kedde	+	Coloración violácea

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

Escasa/leve: (+)

Regular/moderada: (++)

Abundante/intensa: (+++)

Tabla 4: Características de las reacciones químicas en la fracción del acetato de etilo que contiene a los flavonoides de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, Ayacucho – 2020.

Metabolitos	Ensayo	Resultado	Características
Fenoles y taninos	Cloruro férrico (FeCl ₃ 5%)	+++	Verde petróleo
Flavonoides	Shinoda	+++	Rojo ladrillo

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- (+) : Significa que se obtuvo una escasa intensidad en la reacción.
- (++) : Significa que se obtuvo una regular intensidad en la reacción.
- (+++): Significa que se obtuvo una alta intensidad en la reacción.

Tabla 5: Características cromatográficas de los flavonoides presente en las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y del estándar de referencia. Ayacucho – 2020.

Fracción	Revelador		
	Fluorescencia UV	FeCl ₃	Shinoda
Acetato de etilo	Rosa fosforescente	Verde	Rojo oscuro
	Naranja claro	Marrón claro	Rojo ladrillo
	Celeste claro	Marrón claro	Rojo ladrillo
	Verde	Amarillo	Rojo ladrillo
	Azul	Marrón claro	Rojo ladrillo
	Verde fluorescente	Marrón oscuro	Rojo ladrillo
	Mostaza	Amarillo	Rojo ladrillo
	Marrón claro	Naranja oscuro	Rojo ladrillo
	Amarillo	Marrón claro	Rojo ladrillo
* Quercetina	Marrón oscuro	Marrón muy oscuro	Rojo claro

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

(*) Significa que es el estándar de referencia.

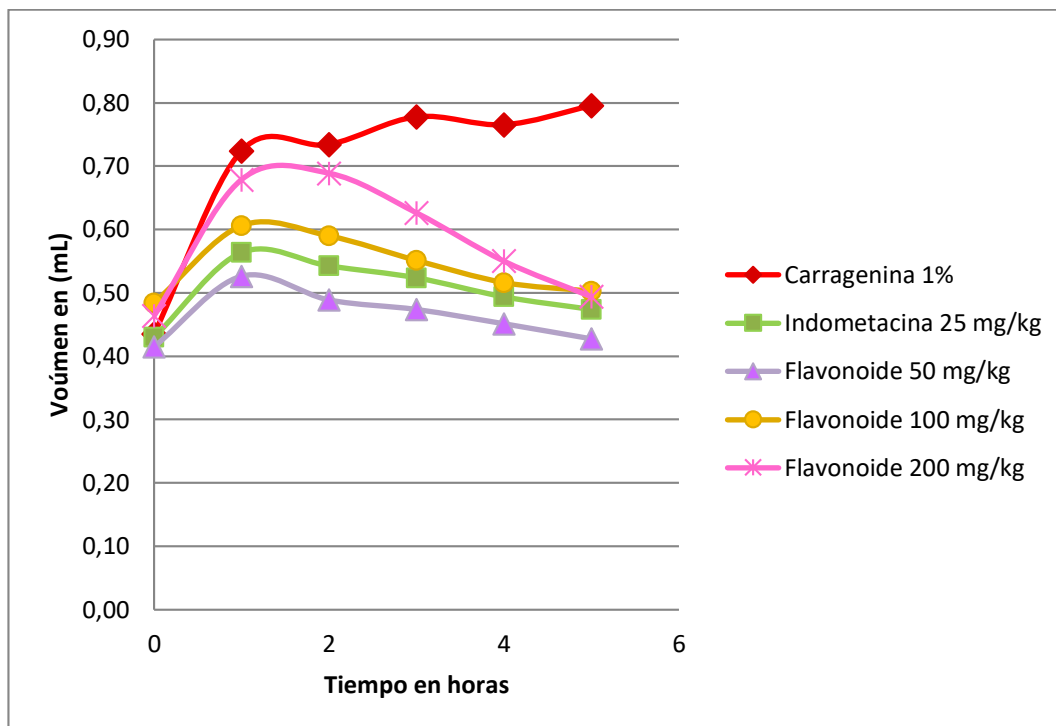


Figura 3. Variación del volumen de inflamación del edema plantar en rata albina en función al tiempo por efecto de los diferentes tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y del estándar de referencia. Ayacucho – 2020.

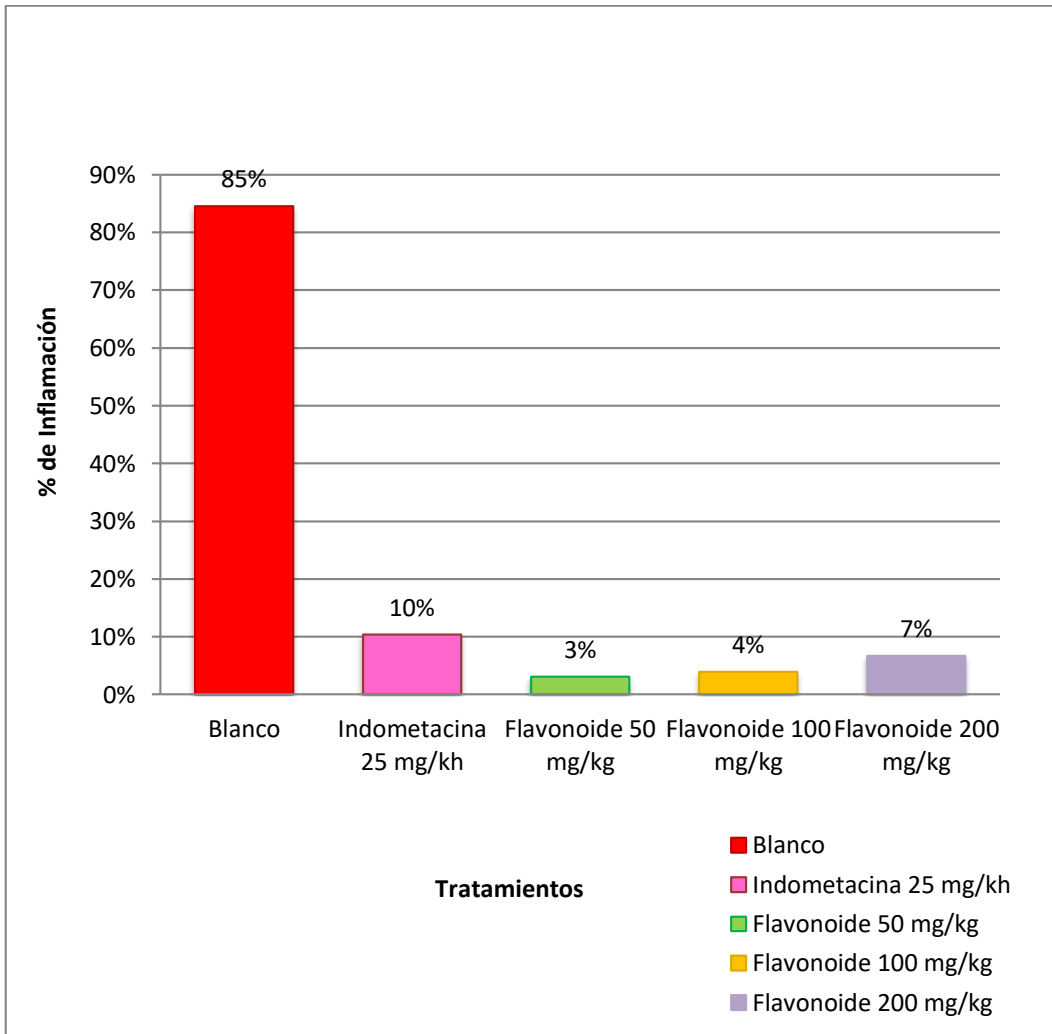


Figura 4. Porcentaje de inflamación en función de los diferentes tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

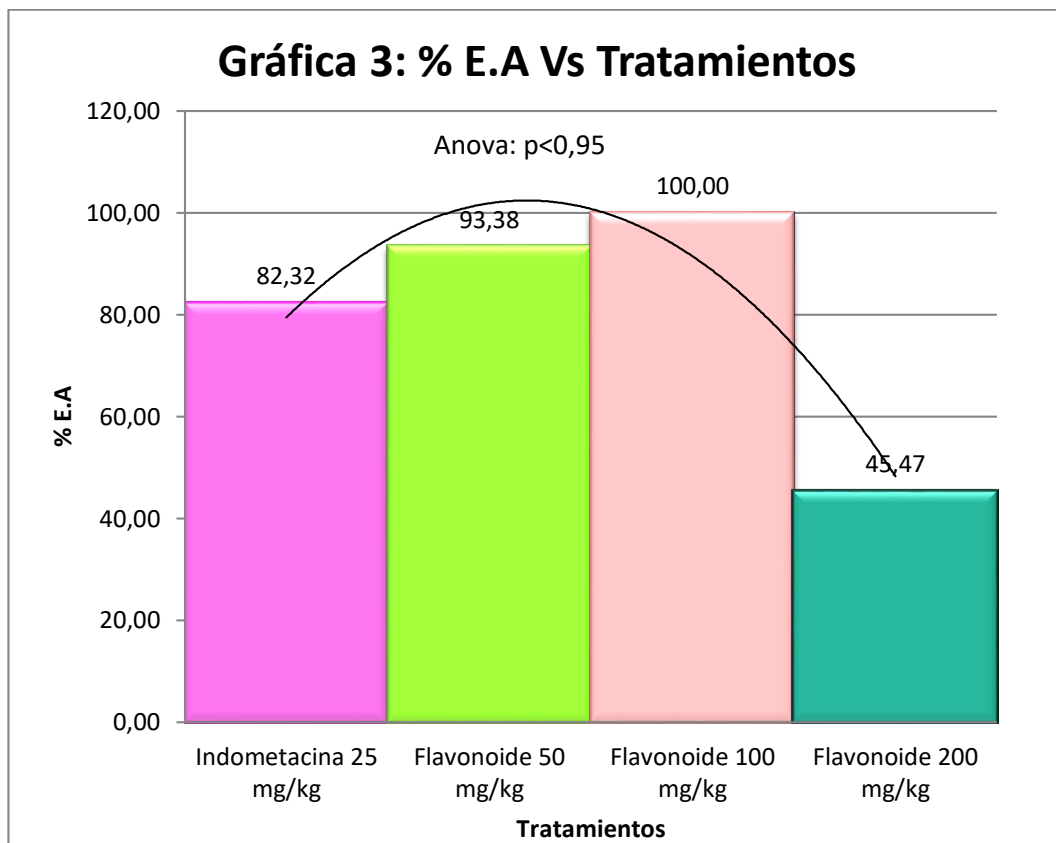


Figura 5. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

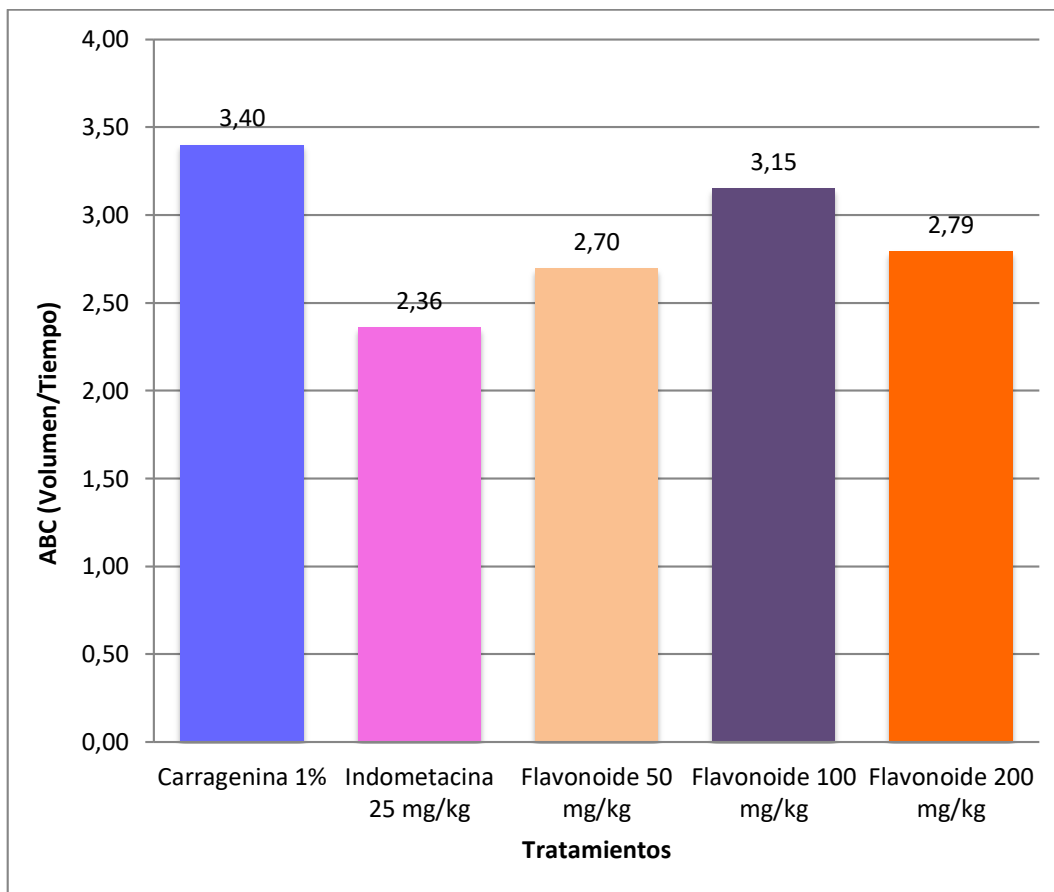


Figura 6. Área bajo la curva (ABC) del volumen de inflamación en función del tiempo según los tratamientos de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

V. DISCUSIÓN

Con el presente trabajo de investigación se demostró la efectividad antiinflamatoria que poseen los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, dónde se empleó una secuencia de solventes con polaridades divergente.⁹ La extracción de los flavonoides está ampliamente descrito. Para la extracción de los flavonoides totales se recurrió al método de extracción sucesiva de líquido a líquido, para eliminar a otros metabolitos sin interés para este estudio. Para ello se utilizó el embudo de separación, en el que se utilizó diferentes solventes, para la extracción de todos los metabolitos secundarios presentes en la planta, se utilizó el solvente etanólico al 80%, en la segunda extracción se utilizó el solvente éter de petróleo con el fin de eliminar algunas ceras, grasas, pigmentos, resinas y otros metabolitos secundarios que no son de suma importancia para este tipo de investigación, en la tercera extracción se utilizó el solvente acetato de etilo con prioridad extractiva de los compuestos fenólicos, y por último se realizó el ensayo cromatográfico preliminar para confirmar la presencia de los flavonoides y ser comparado con la quercetina Q.P, y fueron evidenciados a la luz ultravioleta a 254 nm y 366 nm observándose manchas de color marrón oscuro y fucsia respectivamente. Posteriormente se realizó el sembrío cromatográfico en varias placas cromatográficas con la finalidad de ser aislados los flavonoides, obteniéndose aproximadamente 20 g de flavonoides totales.¹ Los resultados del tamizaje fitoquímico se desarrollaron según la técnica de Miranda y Cuellar ³⁷ y se plasmaron en la tabla 3 y anexo 9, en el que se reportó la presencia de algunos metabolitos: Alcaloides, cumarinas, auroras, quinonas, catequinas, resinas, azúcares reductores, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos libres, flavonoides y glucósidos cardiotónicos.¹ Los flavonoides fueron confirmados con la prueba de Shinoda observándose una coloración rojo ladrillo intensa.

Estos metabolitos también fueron reportados por Zainab J y Estabraq H, quienes realizaron una investigación en Iraq sobre el aislamiento e identificación de flavonoides bioactivos (genisteína, rutina) de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, lograron identificar a muchos componentes activos como: alcaloides, vitaminas y minerales como (potasio, magnesio, omega 3, calcio y hierro), saponinas, glucósidos cardíacos, flavonoides (genisteína, rutina, quercetina), específicamente a la isoflavona (genisteína) y el flavonol (rutina) con la ayuda de la cromatografía líquida de alta performance (HPLC), y la cromatografía preparativa en capa fina (TLC), identificadas por FT-IR y medición de punto de fusión (M.P).⁴ Sin embargo en el estudio del aislamiento de los flavonoides de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, se realizó primeramente la extracción de los flavonoides por el método de extracciones sucesivas utilizando distintos solventes por diferencia de polaridad, comprobándose la presencia de los flavonoides en cada fase, el reconocimiento de los metabolitos secundarios, se evidenció en la fracción del acetato de etilo (Anexo 11), luego se usó la técnica extractiva por cromatografía en capa fina, comprobándose la presencia de los flavonoides, vistas a la luz UV – CAMAG a 254 nm y a 366 nm, corroboradas con un estándar Quercetina (Q.P) y también con el reactivo cloruro férrico. Concluyendo que los flavonoides son responsables de muchas actividades como: antioxidante, antiinflamatorio, antidiabético, antihelmíntico, antibacteriano, antiescorbútico, diurético y como analgésico en hemorroides y blanqueamiento. La genisteína es un tipo isoflavonoide del grupo de flavonoides. Es un fitoestrógeno que tiene propiedades moduladoras selectivas del receptor de estrógeno. La genisteína es eficaz para prevenir enfermedades crónicas como la osteoporosis y el cáncer relacionado con las hormonas debido a su acción antitumoral, antimutagénicos y antifúngico.⁴

En la investigación que lleva por título Composición química y actividad antiinflamatoria del extracto de las partes aéreas de la *Portulaca oleracea* (verdolaga), realizada por Guzmán L, García V, Cuesta O, Jaramillo C, *et al*, en sus resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico se evidenciaron metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, catequinas, aminoácidos, compuestos grasos, saponinas, taninos y azúcares reductores, cuyos resultados coinciden con los obtenidos mediante la investigación realizada del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” como la presencia de los alcaloides, cumarinas, auras, quinonas, catequinas,

resinas, azúcares reductores, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos libres, flavonoides y glucósidos cardiotónicos, concluyendo que la especie presenta diversos compuestos con un alto valor farmacológico. El extracto etanólico al 95% de las partes aéreas (hojas y tallos) de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” han demostrado tener la propiedad antiinflamatoria, al evaluar el extracto etanólico a dosis de 500 mg/kg con referencia al grupo control, evidenciándose una disminución del volumen de inflamación de las patas de las ratas, utilizaron de estándar al naproxeno sódico.⁵ Este estándar mostró mayor eficacia terapéutica, el valor de ($p=0,04$) mostró la mínima diferencia entre los distintos tratamientos, el extracto a la concentración de 500 mg/kg alcanzó un porcentaje de similitud al fármaco estándar, sin embargo en la evaluación de la actividad antiinflamatoria un grupo de las ratas sin tratamiento, se evidenció un incremento de inflamación con el transcurrir del tiempo, mientras que el grupo tratado con el Naproxeno sódico se evidencio el proceso inflamatorio por un lapso de tiempo de 30 minutos, y en las próximas horas se evidencio un declive del volumen de inflamación. Tras este estudio se comprobó que el pico más elevado de inflamación lo tienen el grupo experimental sometido a la carragenina, también llamado grupo control que debido a la inflamación de la patas de las ratas nos brinda una curva de crecimiento exponencial conforme al tiempo transcurrido, sin embargo el grupo tratado con el extracto etanólico de la *Portulaca oleracea* L., al transcurrir el tiempo de 30 minutos, no se produjo la inflamación, pero al cabo de dos horas se observó un incremento del volumen de inflamación, este proceso inflamatorio conforme al tiempo progresivo se evidencio la disminución del volumen de inflamación notoriamente.⁵ Sin embargo en el presente estudio de la evaluación del antiinflamatorio de los flavonoides aislados obtenidas de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, se indujo el edema plantar con carragenina al 1%, y al cabo de media hora se observó el incremento de inflamación de la pata izquierda de la rata, evidenciándose claramente en los valores de inflamación con referencia a los volúmenes iniciales sin exposición a la carragenina y dichos incrementos fueron comparados con los valores del porcentajes de inhibición de la inflamación en los tiempos evaluados.⁵ De otro lado, en los resultados obtenidos por la investigación del aislamiento de los flavonoides de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” se pudo evidenciar que el grupo control tuvo un mayor porcentaje de inflamación de la carragenina en un 85% a comparación con los otros grupos tratados con el estándar que es la

indometacina obteniendo un porcentaje de inflamación menor al 10% y las distintas concentraciones de flavonoides, sin embargo la efectividad es muy similar a los tratamientos sometidos por dicha investigación. En cuanto a los flavonoides de concentraciones (50 y 100 mg/kg) presentaron un menor porcentaje de inflamación de 3 y 4% respectivamente, por lo cual se determinó el porcentaje de efectividad de esas dos concentraciones en un 93,38 y 100% de efectividad respectivamente, y se les asignó el potencial antiinflamatorio muy similar frente al control positivo por inhibir al mecanismo de inflamación, concluyéndose así que los flavonoides presente en la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” tiene una efectividad inhibitoria de la inflamación frente al inductor inflamatorio que es a carragenina.⁵

En la investigación realizada por García A, evaluaron las propiedades nutraceuticas que presenta la *Portulaca oleracea* L. y *Achillea millefolium*; mediante el tamizaje fitoquímico identificaron algunos metabolitos secundarios presentes en dichas especies como los: alcaloides, flavonoides, mucílagos, resinas, azúcares reductores, taninos, cumarinas, catequinas, saponinas y aminoácidos.⁶ Estos metabolitos presentes en el extracto alcohólico al 95%, se obtuvieron por las propiedades que posee este solvente metanólico, ya que al poseer una polaridad intermedia facilita la extracción de los constituyentes afines, solubilizando las sustancias activas como los flavonoides, sin embargo en la investigación realizada sobre el aislamiento de los flavonoides de la *Portulaca oleracea* L “verdolaga”, se obtuvo a los flavonoides a partir del extracto etanólico al 80%, por ende se puede concluir que los extractos alcohólicos desde los grados de 75° hasta los 95° si pueden extraer a los distintos metabolitos secundarios debido a la diferencia de polaridad; la capacidad antiinflamatoria se atribuyó a la presencia de los flavonoides presentes en estas dos especies, para ello se utilizó el método de la inflamación aguda inducida por el agente flogístico como la carragenina y fueron sometidos experimentalmente a dos extractos como el *Achillea millefolium* y la *Portulaca oleracea*, presentando un mejor poder antiinflamatorio por parte de *Achillea millefolium* a comparación de la *Portulaca oleracea*, debido a que la *Achillea millefolium* muestra mayor concentración de fenoles en la hojas con 946,481 ug/mL, mientras que la *Portulaca oleracea* solo obtuvo 335,370 ug/mL de fenoles totales en sus hojas. Por lo tanto la presencia de estos flavonoides en los tallos y hojas de *Portulaca oleracea* tienen una efectividad mayor a la indometacina, sin embargo las hojas y flores de *Achillea*

millefolium muestran una mayor porcentaje de inhibición antiinflamatoria frente a la indometacina.⁶ Dichos resultados de esa investigación demuestran que los distintos extractos que contienen a los flavonoides de *Achillea millefolium* y *Portulaca oleracea* tienen una gran efectividad antiinflamatoria al igual que los resultados obtenidos en la investigación de la extracción de los flavonoides aislados de *Portulaca oleracea*. L. "verdolaga", donde los flavonoides aislados interfirieron en el mecanismo de inflamación, al ser tratado con la indometacina de 25 mg/kg inhibiendo la inflamación en un 82,32%, y el flavonoide de 50 mg/kg en un 93,38%, el flavonoide de 100 mg/kg en un 100%, a diferencia de la última concentración del flavonoide a dosis de 200 mg/kg tuvo un menor porcentaje de inflamación en un 45,47%, lo cual indica que a esa concentración no posee efecto antiinflamatorio, según bibliografías para la aceptación del porcentaje inhibitorio de la inflamación debe pasar la efectividad en un 50%, al no estar dentro del margen de efectividad no se le atribuye dicha efectividad antiinflamatoria. Las concentraciones de 50 y 100 mg/kg indican que los flavonoides tienen una gran capacidad antiinflamatoria al ser comparadas con el grupo control que recibió la carragenina un agente muy inflamatorio.⁶

Un estudio realizado por Santamaría L, realizó un ensayo experimental, dónde indujo un edema con carragenina, y cuyo objetivo fue evaluar la actividad antiinflamatoria a partir del extracto etanólico de verdolaga (*Portulaca oleracea*) probada en ratas (*Rattus norvegicus*), en el proceso para la obtención del extracto etanólico, se basó en un principio de extracción de metabolitos secundarios en el que utilizó solventes de polaridad creciente como el éter de petróleo y el agua, con la finalidad de extraerlos la mayor cantidad posible de los metabolitos responsables de la actividad antiinflamatoria. Cabe destacar que el número de animales en experimentación fueron 15 y se distribuyó en 5 lotes de 3 ratas por cada concentración, comprendidos entre machos y hembras, un análisis bajo la literatura científica ha puesto en evidencia que el uso ineficiente de la cantidad de animales experimentales conlleva a un diseño experimental pobre, para evitar errores de los resultados en el análisis estadístico; sin embargo en la investigación sobre la efectividad antiinflamatoria de los flavonoides aislados de *Portulaca oleracea* L. "verdolaga" se utilizó 48 ratas machos para la investigación, todos del mismo sexo para obtener una homogeneidad en los resultados. La cantidad numerosa de los animales en experimentación se dio de manera randomizado para que la muestra sea más

representativa en la adquisición de buenos resultados. En cuanto a los resultados de la investigación dada por Santamaría L, la indometacina de 25 mg/kg tuvo un porcentaje de inflamación en un 10,56% muy similar a los resultados obtenidos por la investigación de los flavonoides aislados de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” que se tuvo el porcentaje de inflamación en un 10%, sin embargo en dicha investigación por Santamaría L, tuvo los porcentajes de inflamación mucho mayores con respecto a su estándar a las 7 horas después de su administración como la indometacina de concentración 25 mg/kg se obtuvo un 40,65% de inflamación, el extracto hidroalcohólico de 250 mg/kg presento un 72,8% de inflamación, el extracto 350 mg/kg de concentración tuvo un 58,81% de inflamación y la última concentración del extracto de 500 mg/kg tuvo un 41,3% de inflamación, por ende se concluye que las dos distintas concentraciones de extractos de 250 y 350 mg/kg de las artes aéreas de (*Portulaca oleracea*) presentan menor actividad antiinflamatoria con respecto al estándar, sin embargo la concentración del extracto de 500 mg/kg si presenta una igualdad muy cercana al estándar contando con un 41,3% de margen de efectividad muy similar al del estándar; de otro lado, sin embargo en la investigación del aislamiento de los flavonoides de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” se obtuvo tres distintas concentraciones de 50, 100 y 200 mg/kg, de los cuales solo dos concentraciones el de 50 y 100 mg/kg presentan buenos resultados evidenciados en la (Figura 5 - gráfica de histogramas), se observa la inhibición del proceso inflamatorio, la representadas por cada concentración, dónde se observa que la dosis de los flavonoides de 50 y de 100 mg/kg tienen un mayor porcentaje de efectividad a comparación con la investigación que realizó Santamaría L, que fue la dosis de mayor concentración de 500 mg/kg el que presentó mayor efectividad. Mientras el grupo control negativo recibió solamente carragenina para producir la inflamación, debido a ello el porcentaje de inflamación es al 100% (muy elevado), en las próximas horas el porcentaje de inflamación se fueron incrementando de manera significativa. Concluyendo que ninguno de los grupos tratados con las distintas concentraciones de los flavonoides superó al grupo control negativo, ya que sus valores fueron muy altos. El edema producido a los animales de experimentación sin la aplicación de algún antiinflamatorio, comenzó a descender el volumen de la inflamación, aproximadamente a las 24 horas de haber aplicado la carragenina, esto suceso se debe a que el sistema inmunitario regula el proceso inflamatorio.⁷

En la investigación sobre el diseño de una forma farmacéutica semisólida (gel), a partir del extracto de las partes aéreas de la *Portulaca oleracea* (verdolaga), realizada por los autores Guzmán L y Ramírez J, tuvieron por finalidad el demostrar la actividad antiinflamatoria al evaluar a los metabolitos secundarios mediante el tamizaje fitoquímico para establecer de manera cualitativa la composición de extracto, en el que obtuvo resultados positivos para la presencia de alcaloides, flavonoides, catequinas, aminoácidos, compuestos grasos, saponinas, taninos, azúcares reductores y antocianidinas. En cuanto a la cuantificación de fenoles totales, el contenido promedio de fenoles es de 0,673 mg/mL. Por la presencia del metabolito (flavonoide), lo consignó de propiedad antiinflamatoria por inhibir la inflamación a nivel de la aponeurosis plantar, así lo manifiestan Guzmán L y Ramírez J, para la obtención del gel a base de extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea*, previamente realizaron el control de calidad de la droga cruda y del extracto obtenido, mediante la cuantificación de metabolitos como flavonoides y fenoles e identificación de compuestos, usando una alta tecnología como es espectrómetro de masas UHPLC Thermo-Ultimate 3000. Mediante el análisis estadístico identificaron la fórmula ideal mediante una serie de ensayos y control de calidad a cada producto. El gel elaborado a base del extracto etanólico de las partes aéreas de *Portulaca oleracea*, al ser comparado con los flavonoides aislados de la *Portulaca oleracea* presentan una similitud en los resultados³, debido a la presencia de los flavonoides que fueron obtenidos mediante técnicas extractivas, e identificadas cualitativamente por cromatografía en capa delgada (CCD), es una técnica simple y eficaz para la identificación de metabolitos, que tiene como fundamento la separación de las moléculas que son arrastradas por un eluyente mostrando distancias de corrido y colores específicos para cada compuesto o que nos da una idea de lo que puede estar presente en la muestra, y posteriormente fueron revelados con luz Ultra violeta (UV) con una longitud de onda de 254 y 366 nm, evidenciándose así los flavonoides emitiendo una coloración rojiza - fucsia al ser comparada con la prueba de shinoda, por ende se relaciona la presencia de flavonoides con el efecto antiinflamatorio. En el ensayo preclínico realizado al extracto etanólico y ensayado en ratas, mostró tener un efecto antiinflamatorio similar al control positivo (naproxeno sódico), ya que logró disminuir de manera evidente el volumen de inflamación de la pata izquierda del grupo experimental, en el transcurso del tiempo luego de la inyección de la carragenina induciendo a la

inflamación. El Naproxeno sódico y la formulación en gel del extracto hidroalcohólico resultaron tener una similitud en la efectividad. Sin embargo en la investigación del aislamiento de los flavonoides de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” el grupo control positivo (indometacina de 25 mg/kg) en comparación con la concentración del flavonoide de 200 mg/kg mostró un mejor efecto antiinflamatorio, sin embargo las concentraciones de los flavonoides de 50 y 100 mg/kg tuvieron un mayor porcentaje de eficacia antiinflamatoria de 93,38% y 100% respectivamente, representados en la (Figura 5), de esta manera se logró relacionar la presencia de flavonoides con la actividad antiinflamatoria por inhibición el volumen de la inflamación, concluyendo que los flavonoides, son los posibles responsables de la actividad antiinflamatoria.³

Según Reaño C, refiere en su estudio , sobre la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Mentha spicata* “hierbabuena”, *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león”, demostró que la concentración de 10mg/mL del extracto presento actividad antibacteriana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* y *Salmonela enteritidis*, esta actividad fue probada bajo la función inhibitoria al diámetro del halo, determinándose que solo las cepas de *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Mentha spicata* “hierbabuena”, tuvieron un efecto antibacteriano sobre la cepa del *Staphylococcus aureus*; más no sobre la cepa de *Escherichia coli* y *Salmonela enteritidis*, en tanto el extracto de la *Portulaca oleracea* “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león”, no presentaron algún indicio de actividad antibacteriana frente a los microorganismos en estudio, concluyéndose que los extractos de *Portulaca oleracea* “verdolaga” no posee actividad antibacteriana, sin embargo este resultado obtenido por Reaño C, no comprueba que la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, no posea otras actividades farmacológicas; ya que estudios recientes sobre el aislamiento de los flavonoides, demuestran que la especie *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, posee el efecto antiinflamatorio debido a la presencia de los flavonoides y que estos son evidenciadas y plasmadas en el (Anexo 11 y 13); el efecto antiinflamatorio se da por inhibición de las prostaglandinas, es por ello que se le atribuye a los flavonoides, como los responsables de la actividad antiinflamatoria, un análisis de estos aspectos en la literatura científica ha puesto en evidencia que el género *Portulaca* posee otras propiedades farmacológicas como antioxidantes, captación de radicales libres ²⁴,

cardiotónicas, antitrombóticas, protección del hígado, antiulceroso, fragilidad capilar y disminución del colesterol ¹⁶, en cuanto a los resultados obtenidos por la investigación del aislamientos de los flavonoides de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, se observa que el de mayor efecto antiinflamatorio lo presenta el flavonoide a dosis de 100 mg/kg, seguido está el flavonoide a dosis de 50 mg/kg, presentando porcentajes de eficacia en un 100% y 9,384 % respectivamente. Para la carragenina el porcentaje de inflamación de acuerdo al método empleado se encontró un incremento progresivo hasta la quinta hora de ser administrada la carragenina produciendo a las 5 horas un porcentaje de inflamación más elevado de 85%.⁸

En un estudio realizado por Coronado E, reportó la presencia de algunos metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *Ageratina sternbergiana*, como azúcares reductores, catequinas, cumarinas, flavonoides, fenoles, taninos y triterpenos y/o esteroides; atribuyéndole la actividad antiinflamatoria y antioxidante a los compuestos fenólicos que fueron aislados de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (DC) King & Rob “marmaquilla”, este estudio permitió conocer a los compuestos fenólicos presentes en esta planta al cual se le atribuye un alto valor farmacológico, este estudio es concordante con el presente trabajo de investigación en la obtención de los metabolitos secundarios de los flavonoides aislados de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, plasmada en la (tabla 5), al ser evidenciadas con la prueba del cloruro férrico al 5%, se observó una reacción química de coloración verde negruzca, confirmando la presencia de grupos fenólicos en abundante concentración, dado que todas las reacciones mediante el tamizaje fitoquímico dieron positivas, se le atribuyó la propiedad antiinflamatoria por la presencia del metabolito secundario (flavonoide) en las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. En la determinación de la actividad antiinflamatoria de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (DC) King & Rob “marmaquilla”, Coronado B, utilizó el método del edema plantar inducido con carragenina, donde obtuvo un mayor beneficio antiinflamatorio con el extracto etanólico a dosis de 400 mg/kg con un porcentaje antiinflamatorio en un 96,48%, comparado con el estándar (diclofenaco), sin embargo con el estudio del aislamiento de los flavonoides de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, a dosis de 50 y 100 mg/kg se obtuvo un mayor porcentaje de eficacia en un 93,38% y 100% respectivamente que al ser comparado estadísticamente con el estándar (indometacina de 25 mg/kg) presenta un 82,32% de eficacia antiinflamatoria muy

óptima. Del análisis estadístico, (Gráfica 3 y anexo 20), se demuestra que existe una diferencia significativa en los diferentes tratamientos, evidenciándose de esta manera que el efecto antiinflamatorio existe en los grupos que recibieron las concentraciones de los flavonoides respecto al control y en la prueba HDS de Tukey (Anexo 20), sin embargo las dos concentraciones flavónica de 50 y 100 mg/kg estadísticamente poseen el mismo comportamiento farmacológico, demostrando su efectividad antiinflamatoria. En el (Anexo 20), se puede visualizar en la tabla del área bajo la curva, las medias para los grupo en los sub conjuntos homogéneos, en el que utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000, por ello se observa que existe cierta similitud en el AUC entre el grupo del Flavonoide de 50 mg/kg comparado con el estándar (indometacina de 25 mg/kg), flavonoide de 100 mg/kg comparado con el estándar (indometacina de 25 mg/kg), con un intervalo de confianza del 95%.⁹

VI. CONCLUSIONES

1. Los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, presentaron un efecto antiinflamatorio empleando el modelo *in vivo* del edema plantar inducido con carragenina en ratas albinas machos de la cepa Holtzman.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” son: Alcaloides, cumarinas, auroras, quinonas, catequinas, resinas, azúcares reductores, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos libres, flavonoides y glucósidos cardiotónicos.
3. Los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” a las concentraciones de 50 y 100 mg/kg muestran un mayor efecto antiinflamatorio muy similar al estándar indometacina 25 mg/kg.
4. Los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” a las concentraciones de 50 mg/kg (93,38%) y 100 mg/kg (100%) muestran un mayor porcentaje de eficacia antiinflamatoria en comparación al estándar indometacina 25 mg/kg (82,32%).

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con estudios de extracción de flavonoides de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” empleando diferentes técnicas extractivas dónde se evalúen múltiples variables de respuesta.
2. Se recomienda para las próximas investigaciones realizar estudios espectroscópicos para elucidar las estructuras moleculares de los flavonoides de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.
3. Desarrollar formas farmacéuticas a partir de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” tratando de potenciar su actividad antiinflamatoria.
4. Difundir el estudio de las propiedades de esta planta *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, para que la población peruana tome conciencia de sus beneficios y así darle un valor en su uso y conservación.
5. Realizar estudios de los residuos desechados, ya que estas no tienen aplicabilidad a nivel nacional; sin embargo podrían contener algunos compuestos bioactivos con diversas propiedades.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pomahuacre Y. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. “retama”. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2015.
2. Palomino M. Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Szygium aromaticum* (L.) Merr. G. L. M. Perry. “clavo de olor”. [Tesis para obtener el Título profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2014.
3. Guzmán L y Ramírez J. Diseño de un gel con actividad antiinflamatoria a partir de un extracto obtenido de las partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga). [Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico] [Internet]. Machala – Ecuador: Universidad técnica de Machala; 2015. [Citado 03 de agosto 2020]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/323637050/Diseno-de-Un-Gel-Con-Actividad-Antiinflamatoria-a-Partir-de-Un>
4. Zainab J y Estabraq H. Isolations an identification of bioactive flavonoids (genistein, rutin) from *Portulaca oleracea* L. cultivated in Iraq. Revista Kerbala journal of pharmaceutical sciences [Revista en internet]. Iraq. 2015. [Citado 05 de agosto 2020]. Vol. (10): 4. Disponible en: http://pharmacy.uokerbala.edu.iq/wp/wp-content/uploads/2016/05/images_journal_10.no._5.pdf
5. Guzmán L, García V, Cuesta O, Jaramillo C, et al. Composición química y actividad antiinflamatoria del extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga). Revista cubana de Farmacia. [Revista en Internet]. Ecuador. 2017 [Citado 08 de agosto 2020]; Vol. 51(1): 3. Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/185>
6. García A. Evaluación fitoquímica y propiedades nutraceuticas de *Portulaca oleracea* y *Achillea millefolium*. [Proyecto de investigación para obtener el título de Ingeniero Farmacéutico] [Internet]. México D.F. Instituto politécnico nacional unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología; 2015. [Citado 11 de agosto 2020]. 33. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/366119542/Antiinflamatorio-Antioxidante-Verdolaga-Milenrama-BN>

7. Santamaría L. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de verdolaga (*Portulaca oleracea*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con edema inducido por carragenina, en el Bioterio Espoch. [Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico] [Internet]. Riobamba – Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultas de Ciencias; 2011. [Citado 12 de agosto 2020]. 51. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1609/1/56T00287.pdf>
8. Reaño C. Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Mentha spicata* “hierbabuena”, *Portulaca oleracea* “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león”. [Tesis para obtener el Título de Biólogo - Microbiólogo]. [Internet]. Trujillo – Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. [Citado 15 de agosto 2020]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4801>
9. Coronado E. Actividad antiinflamatoria y antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (DC) King & Rob “marmaquilla”. [Tesis para obtener el Título profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2013.
10. Fahmi T. Estudio de la Actividad sobre el Sistema Nervioso Central de Especies Vegetales procedentes de la Flora Egipcia. [Memoria para optar al grado Doctoral]. [Internet]. España – Madrid: Universidad Complutense de Madrid Facultad de Farmacia. Departamento de Farmacología; 2013. [Citado 18 de agosto 2020]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/21219/1/T34422.pdf>
11. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Revista Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. [Revista en internet]. México. 2009. [Citado 21 de agosto 2020]. Disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Portulaca_oleracea&id=7511
12. Verdolaga. Las Plantas medicinales en el Perú. Portada ABC. Perú. [Internet]. [Citado 24 de agosto 2020]. [aprox. 12 pantallas]. Disponible en: <https://www.deperu.com/abc/plantas-medicinales/4200/verdolaga>
13. Velásquez L. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” en un modelo experimental en *Rattuss*

- rattus var. Albinus*. [Trabajo de investigación para optar el grado académico de bachiller en Farmacia y Bioquímica]. [Internet]. Chimbote – Perú: Universidad Católica los Ángeles Chimbote; 2019. [Citado 28 de agosto 2020]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/17486/CIC_RATIZANTE_PORTULACA_OLERACEA_L_VELASQUEZ_%20RAMOS_%20LADY%20_ESTRELLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
14. Laverian M. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en *Portulaca oleracea* (Verdolaga). [Trabajo de investigación para optar el grado académico de bachiller en Farmacia y Bioquímica]. [Internet]. Chimbote – Perú: Universidad Católica los Ángeles Chimbote; 2018. [Citado 31 de agosto 2020]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/16958/ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_%20LAVERIAN_%20LEON_%20MIGUEL_%20ANGEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 15. La verdolaga. Rev. ABC. [Internet]. Perú. 2017. [Citado 02 de setiembre 2020]. Disponible en: <http://www.deperu.com/abc/plantas-medicinales/2807/la-verdolaga>
 16. Arvizu M. Identificación de metabolitos secundarios y evaluación de actividad antioxidante de extractos acuosos de *Portulaca oleracea*, *Chenopodium murale* y *Malva parviflora*. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo]. [Internet]. Santiago de Querétaro - México: Universidad Autónoma de Querétaro; 2009. [Citado 04 de setiembre 2020]. 20, 21. Disponible en: <http://ri.uaq.mx/xmlui/handle/123456789/6233>
 17. Pérez D, Martínez D, Rodríguez J. Evaluación de las propiedades antioxidantes de la *Averrhoa carambola* y *Portulaca oleracea* L. Eva. Prop. Antiox. Averr. Caram. Portu. Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. [Revista en internet]. Habana - Cuba. 2015 [Citado 07 de setiembre 2020]. Vol. 1 (2): 1 - 8. Disponible en: <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/47/79>
 18. Rengifo R. Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. Revista Farmaciencia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. [Revista en internet]. Trujillo - Perú. 2013. [Citado 08 de setiembre 2017]. 1 (2): 55. Disponible en:

- <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:kYU8pntU1qIJ:www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/download/462/418+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe>
19. Núñez W y Quispe R. Evaluación antioxidante y antienzimática *in vitro* y antiinflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara”. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. [Internet]. Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015. [Citado 08 de setiembre 2020]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4484/1/Nu%C3%B1ez_ew.pdf
 20. Curiñaupa L. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Urtica urens* L “hortiga común”. [Tesis para obtener el Título profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2013.
 21. Limón D, Díaz A, Mendieta L, Luna F *et al.* Los flavonoides: Mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. Lab. de Neurofarmacología, facultad de ciencias químicas. BUAP2. Depto. De Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. [Internet]. México. 2010, marzo. [Citado 12 de setiembre 2020]. 1 (34): 143 - 154. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259344548_LOS_FLAVONOIDES_MECANISMO_DE_ACCION_NEUROPROTECCION_Y_EFECTOS_FARMACOLOGICOS
 22. Kidega B. Saco intestinal aislado para estudio *in vitro* de transporte de flavonoides. [Tesis presentada en opción al grado científico de master en Ciencias Farmacéuticas]. [Internet]. Santa Clara – Cuba: Universidad Central “María Abreu” de Las Villas Facultad de Química y Farmacia. Departamento de Farmacia; 2012. [Citado 16 de setiembre 2020]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4801>
 23. Gómez M. Flavonoides. Industrialización de productos naturales. [Internet]. Perú – Trujillo: Universidad Nacional De Trujillo. Facultad de Ingeniería Química; 2013. [Citado 19 de setiembre 2020]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/126059854/MONOGRAFIA-flavonoides#>
 24. Ivan I. Flavonoides. Rev. Slide Share. [Internet]. 2016, octubre. [Citado 23 de setiembre 2020]. 2 – 14. Disponible en: <https://www.slideshare.net/IgorVillalta/flavonoides-67687175>

25. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
26. Bruneton J. Plantas medicinales. Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza - España. 2001
27. Choquehuanca J. Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. "chamana". [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. [Internet]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2016. [Citado 28 de setiembre 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2547>
28. Fernández J, Zapata E, Santiesteban X, Lescay O, *et al.* Uso y abuso de las prostaglandinas. Revista MiSciLO. MEDISAN. [Revista en internet]. Versión On-line ISSN 1029-3019. vol.19 (1): 113. Santiago de Cuba ene.-ene. 2015. Recibido: 19 de marzo de 2014. Aprobado: 05 de octubre 2020. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192015000100015
29. Cárdenas B. Inflamación crónica inespecífica y granulomatosa. Patología general y especial. Arequipa – Perú: Universidad Nacional San Agustín. Facultad de Medicina; 2016. [Citado 05 de octubre 2020]. Disponible en: <https://www.monografias.com/trabajos109/inflamacion-cronica-inespecifica-y-granulomatosa/inflamacion-cronica-inespecifica-y-granulomatosa.shtml>
30. Tinco J. Drogas que actúan a nivel de la inflamación, analgesia, pirsésis y cicatrización. Cap. 20. Drogas antiinflamatorias. Experimentos farmacológicos en plantas medicinales. Pag. 76 al 80. Ayacucho – Perú. 2020.
31. Hernández M. Caracterización de fármacos (emodina, ketorolaco, indometacina y piroxicam) sobre nanopartículas metálicas mediante espectroscopía molecular (SERS y MEF). [Memoria para optar al grado de Doctora]. [Internet]. España – Madrid: Universidad complutense de Madrid; 2017. [Citado 06 de octubre 2020]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/43904/1/T39020.pdf>

32. Indometacina. Rev. Vademecum.es. [Internet]. Madrid - España. 2015, enero. [Citado 08 de octubre 2020]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-indometacina-m01ab01>
33. Indometacina. [Internet]. [Citado 09 de octubre 2020]. 2. Disponible en: <http://www.montpellier.com.ar/prosp/13.pdf>
34. Velazco C. Optimización del proceso de extracción de flavonoides de las hojas de *Oenothera rosea* Ait. “chupasangre”. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2016.
35. Palomino L. Actividad antioxidante de los flavonoides aislados de la raíz de *Hypseocharis bilota* killip “pacha tara”. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, pag. 24; 2013.
36. Romaní L. Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de la semilla de *Persea americana* Mill. “palta jass” frente a *Escherichia coli*. ATCC 35218. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2016.
37. Miranda M y Cuellar A. Manual de Prácticas de laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
38. Choque A. Actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Psidium guajava* L “guayaba”. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2018.
39. De la cruz H. Efecto broncodilatador de los flavonoides aislados de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* M.Arg. “huanarpo macho” en anillos traqueales. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2019.
40. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Revista cubana de Farmacia. [Revista en internet]. Habana – Cuba: Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos; 2002 [Citado 18 de octubre

- 2020]; pág. 21. Disponible en: <https://vdocuments.site/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
41. Aybar K y Ari V. Efecto antiinflamatorio y toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Nasa urens* (Jacq.) Weigend (Ortiga de las lomas) en animales de experimentación. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. [Internet]. Lima – Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. [Citado 19 de octubre 2020]. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2681/TESIS_KARINA%20AYBAR_Y_VICTOR%20ALFREDO.pdf?sequence=3
42. Díaz M. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”. [Tesis para obtener el Título profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2015.
43. Campos D. Efecto gastoprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa Orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2018.
44. Torres W, Mendoza L, Vicci H, Eblen A, *et al.* Evaluación de parámetros inflamatorios locales y sistémicos de quemadura periférica en un modelo animal. Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. Revista en internet]. Perú. 2016. [Citado 26 de octubre 2020]; Vol. 33 (4). Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/2556/2583>
45. García R. Actividad antiinflamatoria y antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Senecio nutans* Sch. Bip. “wiscataya”. [Tesis para obtener el Título profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2018.
46. Alfaro M. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) d.c. “manayupa”. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. pag. 6, Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2016.

47. Manual del usuario del Pletisnómetro digital. LE7500 PETISNÓMETRO DIGITAL V20/12/10. Panlab HARVARD APPARATUS. 2020.
48. Vásquez J. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Berberis flexuosa* R. & P. "tankar". [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2018.
49. Bejar M. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote" en ratas albinas, Ayacucho – 2017. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho – Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2018.
50. Hernández S, Fernández C y Baptista L. Metodología de la investigación. Quinta edición. México DF. McGraw – Hill interamericana. [Internet]. México D.F. 2010. [Citado 05 de noviembre 2020]. 140. Disponible en: https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

IX. ANEXOS

ANEXO 1: Certificado de identificación botánica de *Portulaca oleracea* L.
“verdolaga”, Ayacucho – 2017.



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica Srta. **Jhoszelne Salinova, LÓPEZ ALCARRAZ**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST, A (1 988), y es como sigue

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	PORTULACACEAE
GENERO	:	<u>Portulaca</u>
ESPECIE	:	<i>Portulaca oleracea</i> L.
N.V.	:	“verdolaga”.

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 8 de Setiembre del 2 017.

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

Dña. Laura Arcasine Medina
JEFE

ANEXO 2: Certificado del material biológico. Ayacucho – 2019.



FIDA
FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGRARIO
Jr. Camilo Carrillo N° 325 -Jesús María - Lima - Lima

RUC: 20101259012
BOLETA DE VENTA ELECTRÓNICA
B213 - 00001313

Punto de emisión : Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Lima

Página Web: www.fidaweb.com

Fecha : 12/10/2019

Identificación: DOC. NACIONAL DE IDENTIDAD

N° Identificación: 43163269

Nombre: JHOSZELNE SALINOVA LÓPEZ ALCARRAZ

Dirección: DEPARTAMENTO DE AYACUCHO * PROVINCIA HUAMANGA

DESCRIPCIÓN	UND.	CANTIDAD	PRECIO UNIT.	IMPORTE
RATAS ALBINAS MACHOS (+2 MESES) CEPA HOLTZMAN	NIU	40.00	18.00	720.00



DESPACHADO

12 / 10 / 2019



SON: TRESCIENTOS SETENTA Y CINCO Y 00/100 SOLES						
TOTAL GRAVADA	TOTAL EXONERADA	TOTAL DSCTO.	VALOR VENTA	IMPUESTO	ISC	IMPORTE TOTAL
S/ 610.20	S/ 0.00	S/ 0.00	S/ 610.20	S/ 109.8	S/ 0.00	S/ 720.00

Autorizado mediante resolución N° 0320050000973 /SUNAT

IP7YvcVPip4TMaD7RP3fepdmNDQ =

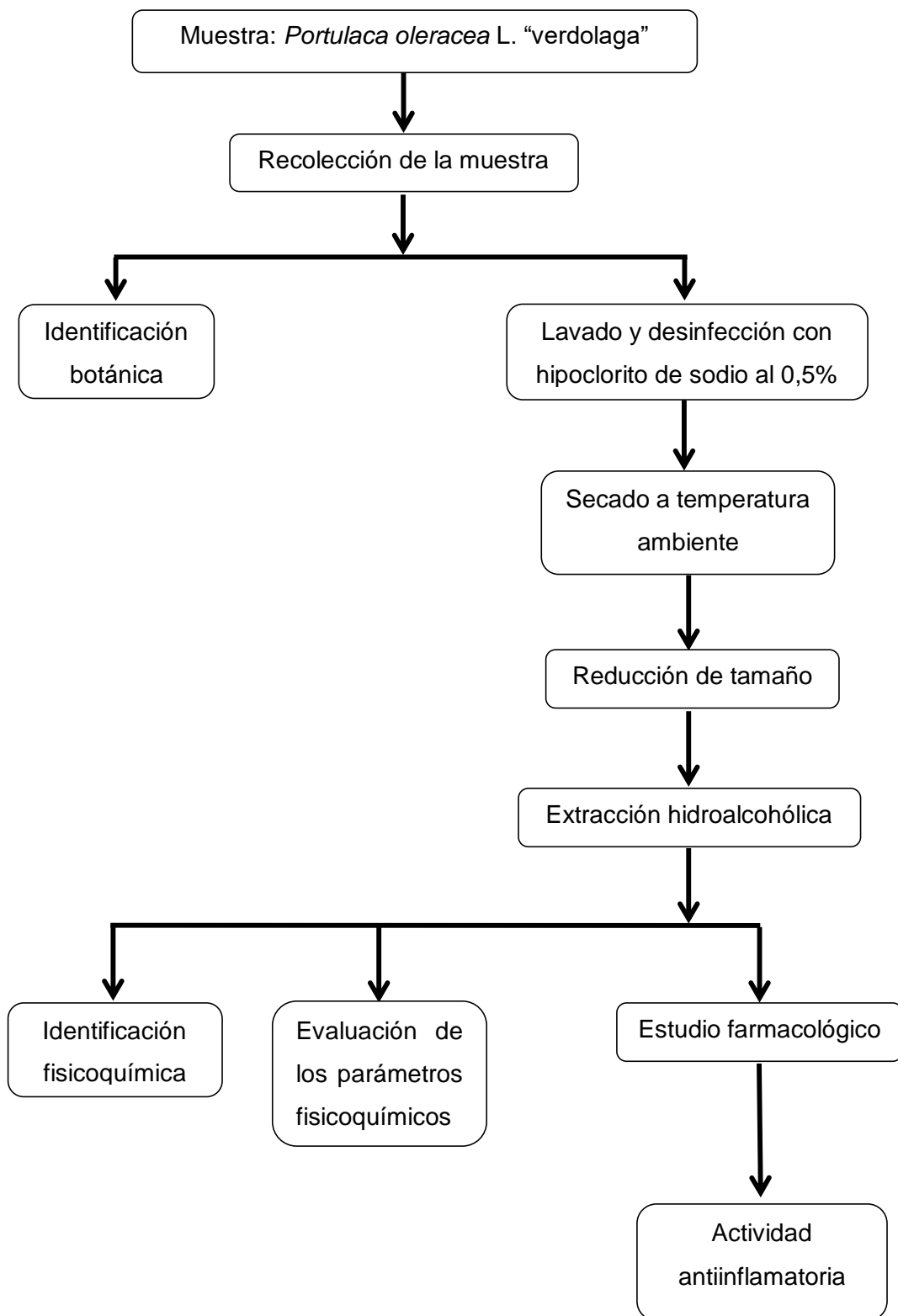
Puede descargar su comprobante desde el sitio: <http://consulta.fidaweb.com.pe>



ANEXO 3: Fotografía de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



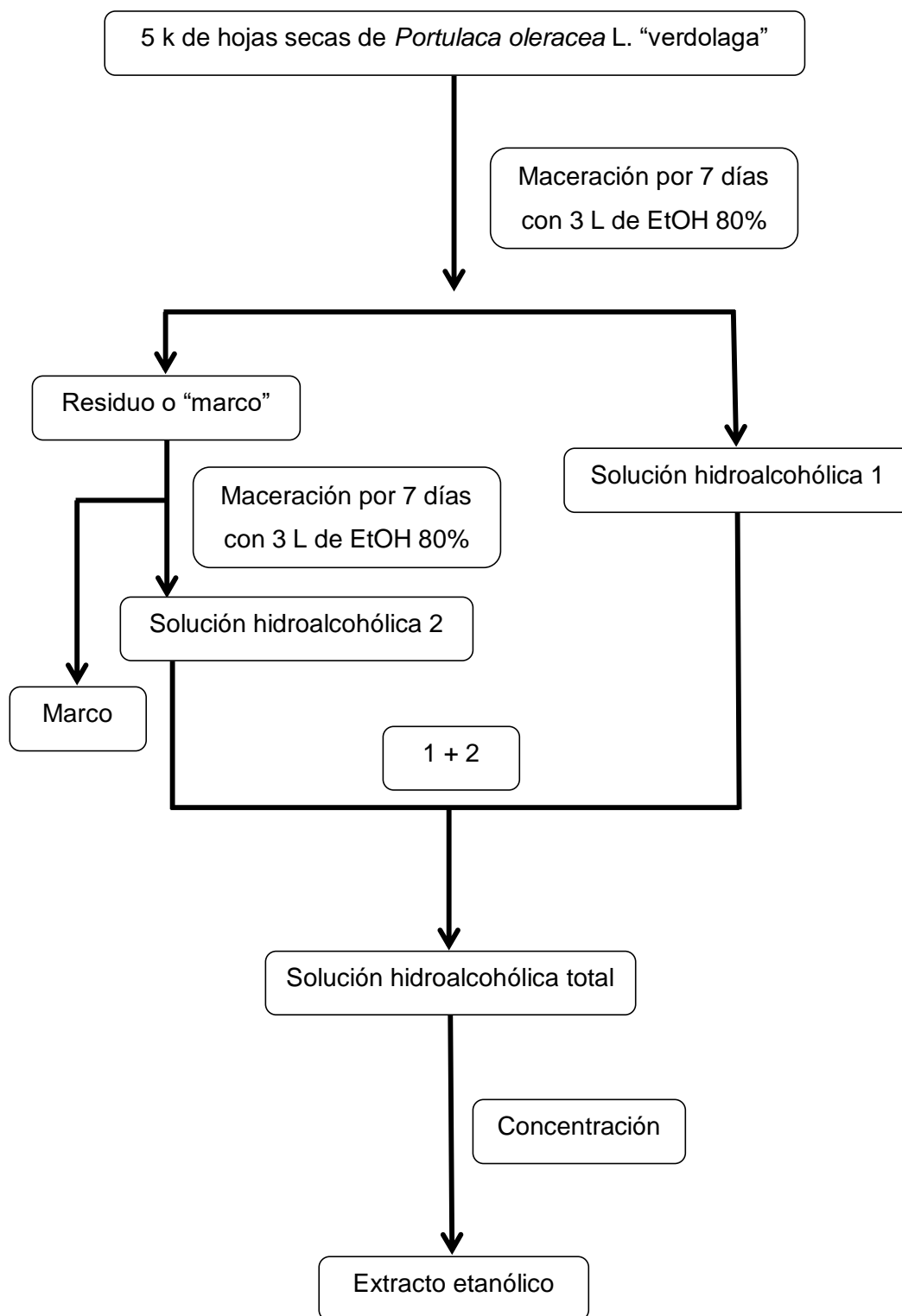
ANEXO 4: Esquema de la recolección, identificación, lavado y secado de la muestra de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



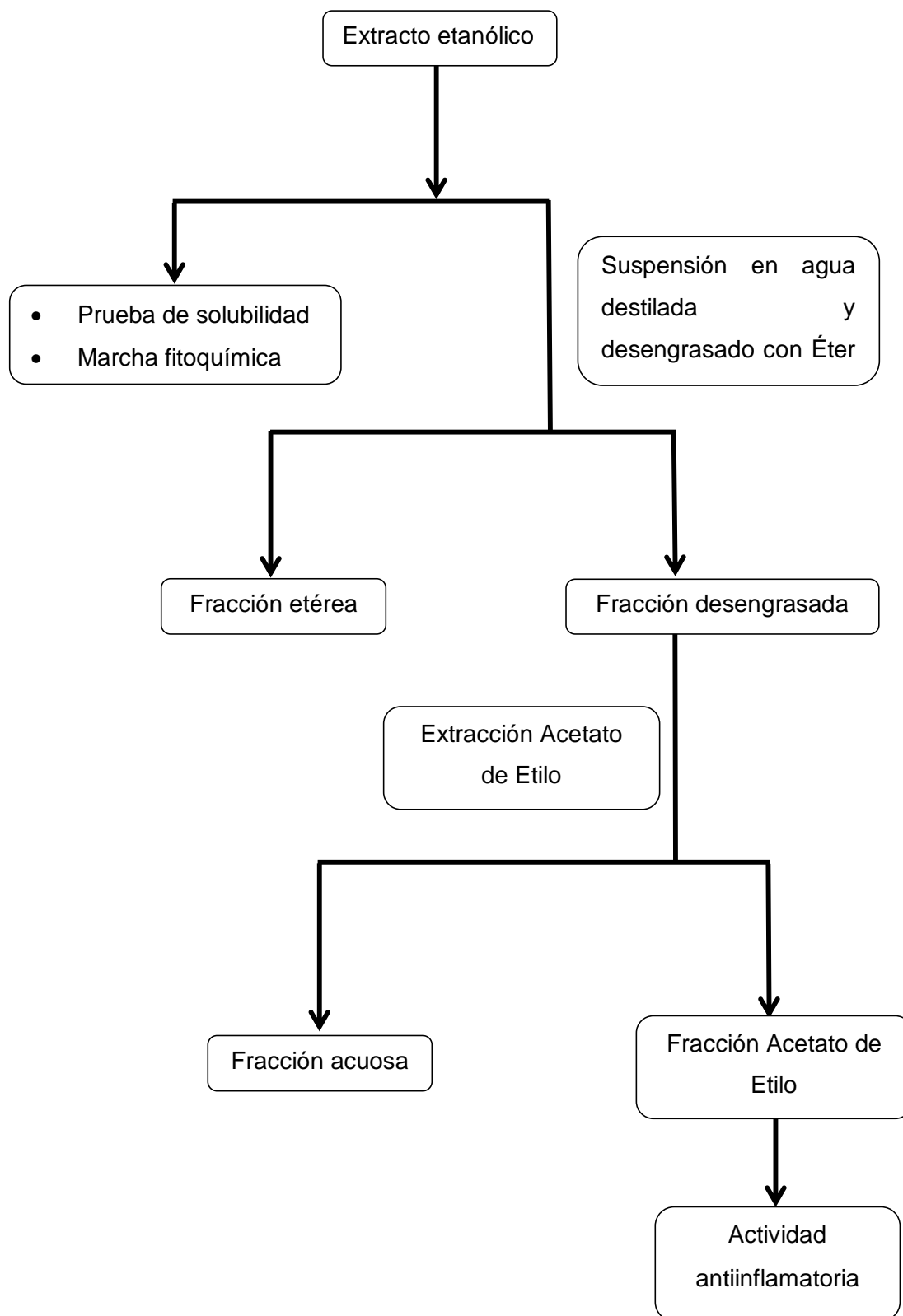
ANEXO 5: Recolección y secado de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



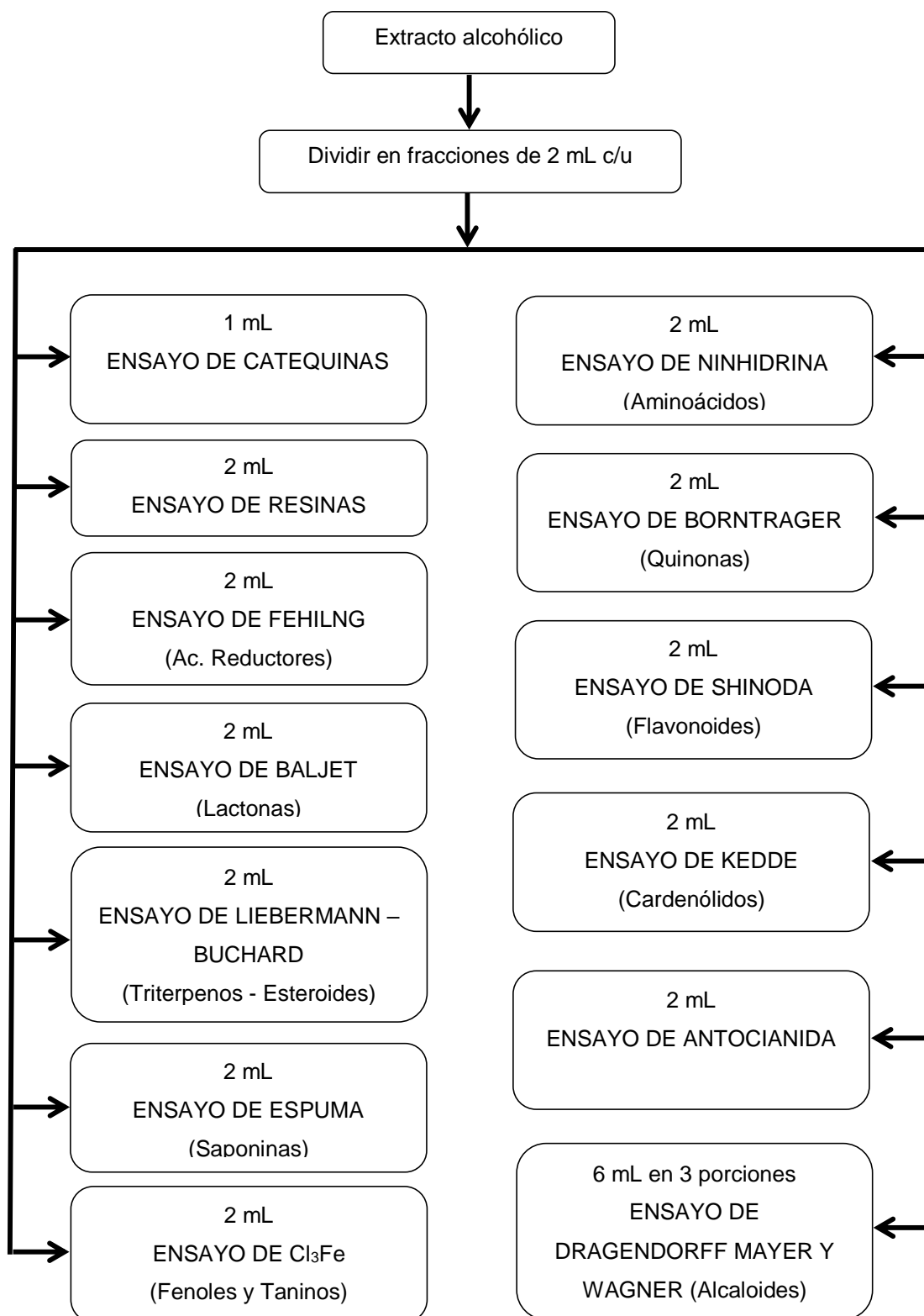
ANEXO 6: Esquema de la obtención del extracto hidroalcohólico de la hojas de la *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



ANEXO 7: Esquema de la técnica extractiva de los flavonoides del extracto etanólico de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



ANEXO 8: Esquema de la marcha fitoquímica del extracto etanólico al 80% de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



ANEXO 9: Metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

Metabolitos	Ensayo	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto etéreo	Extracto acetático
Alcaloides	Dragendorff	(+)	(+)		
	Mayer	(+)	(++)		
	Wagner	(+)	(+)		
Cumarinas	Baljet	(+)	(++)		
Quinonas	Borntrager	(-)	(-)		
Compuestos grasos	Sudan III	(+)	(+)	(++)	
Catequinas	Catequinas	(+)	(+++)		
Resinas	Resinas	(+++)	(-)		
Saponina	Espumas	(+++)	(++)		
Mucílagos	Mucílagos	(+++)	(-)		
Taninos	Cloruro férrico	(+++)	(++)		(++)
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	(+++)		
Flavonoides	Shinoda	(-)	(+++)		(+++)
Antocianidinas	Estructuras C6-C3-C6		(+)		
Cardenólidos	Kedde	(+)	(++)		
Azúcares reductores	Fehling	(-)	(+++)		
	Benedict	(+)	(++)		

Leyenda:

(+) : Significa que se obtuvo una baja intensidad del metabolito en la reacción.

(++) : Significa que se obtuvo una moderada intensidad del metabolito en la reacción.

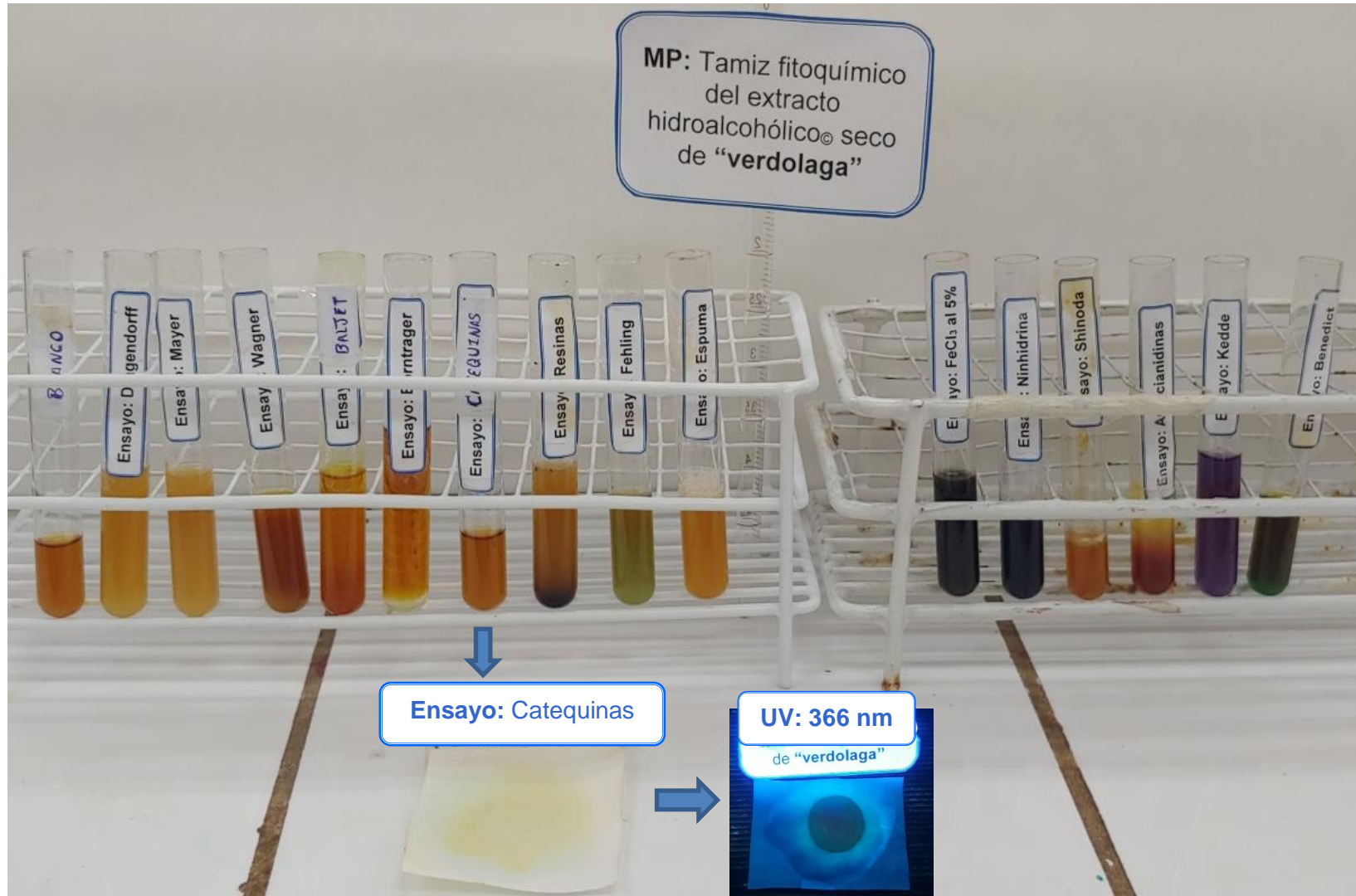
(+++): Significa que se obtuvo una alta intensidad del metabolito en la reacción.

(-) : Significa que no se obtuvo alguna respuesta del metabolito en la reacción.

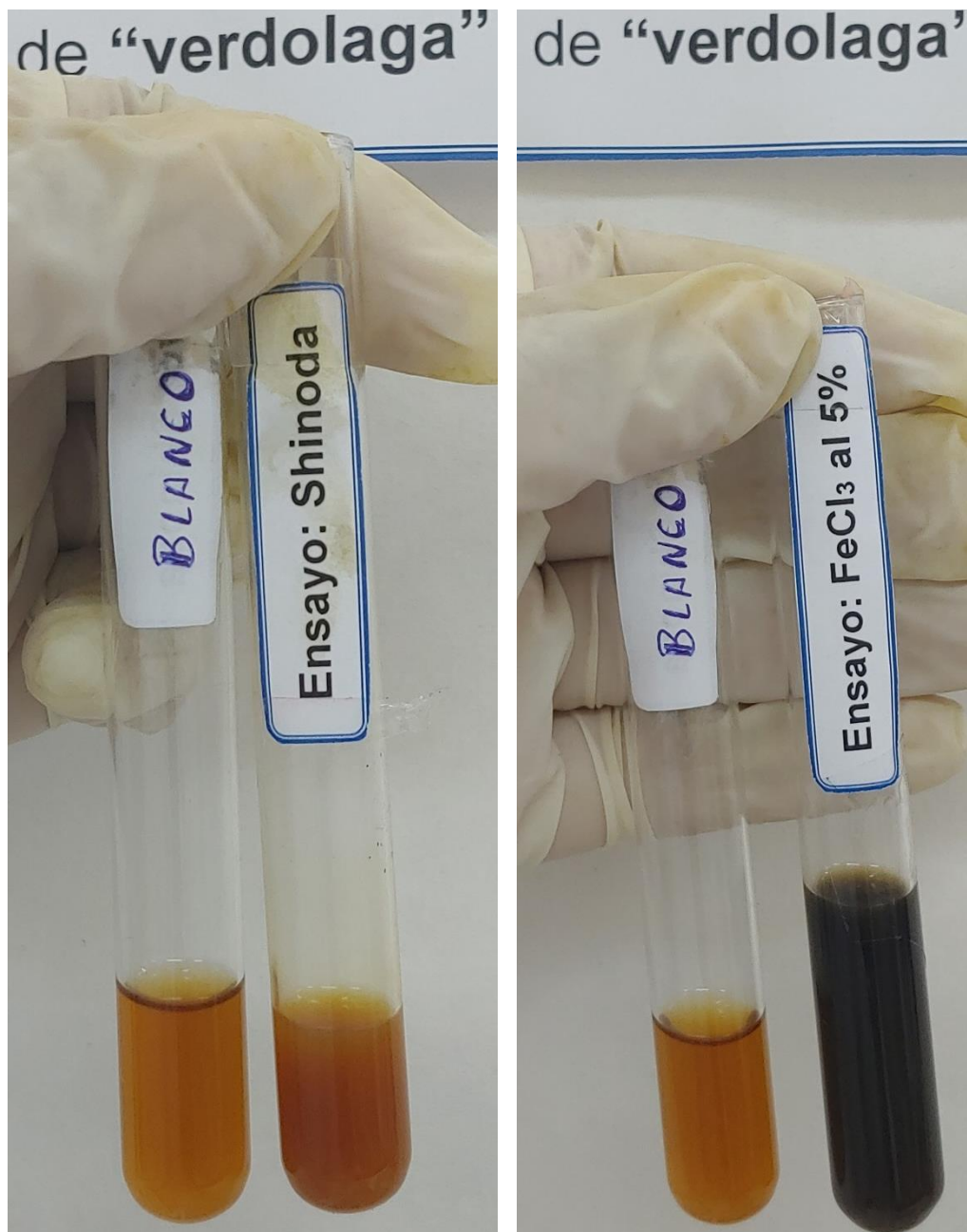
Los espacios en blanco significan que no se le realizaron algún ensayo al extracto.

Las plantas medicinales deben sus propiedades a una variedad de metabolitos que forman parte de ellas. El tamizaje fitoquímico es representado en la tabla 1, muestra que los metabolitos presentes en el extracto serían los posibles responsables de la actividad atribuida a esta especie vegetal.^{3, 18}

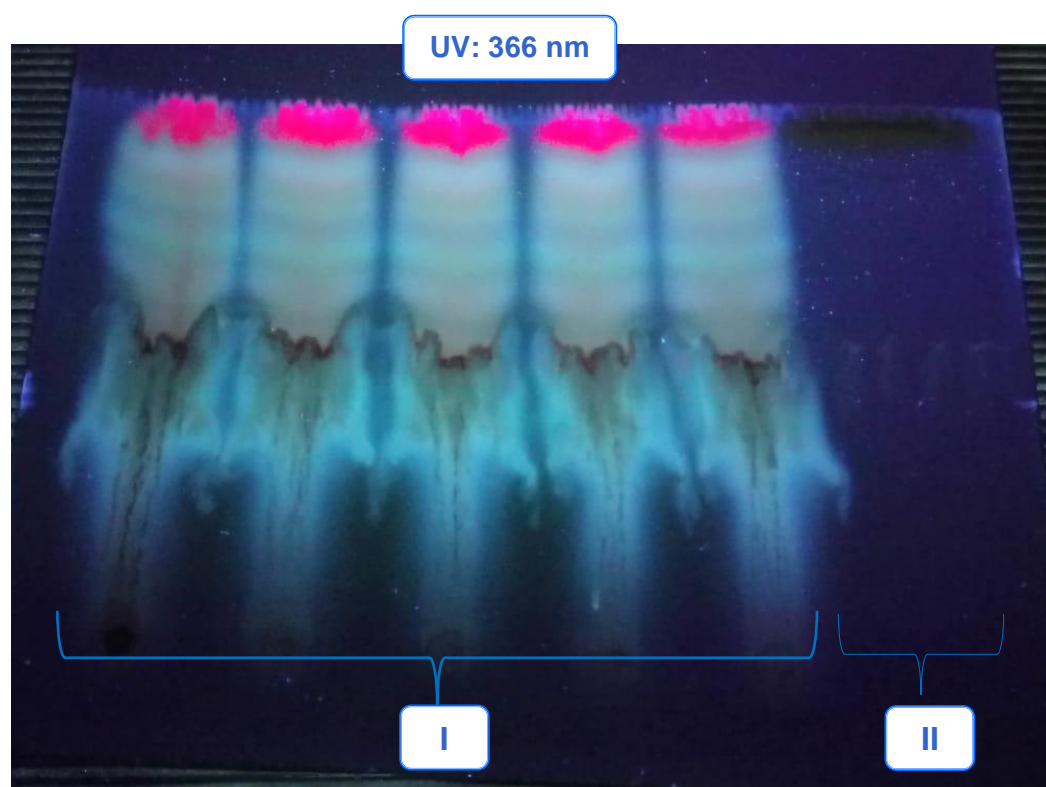
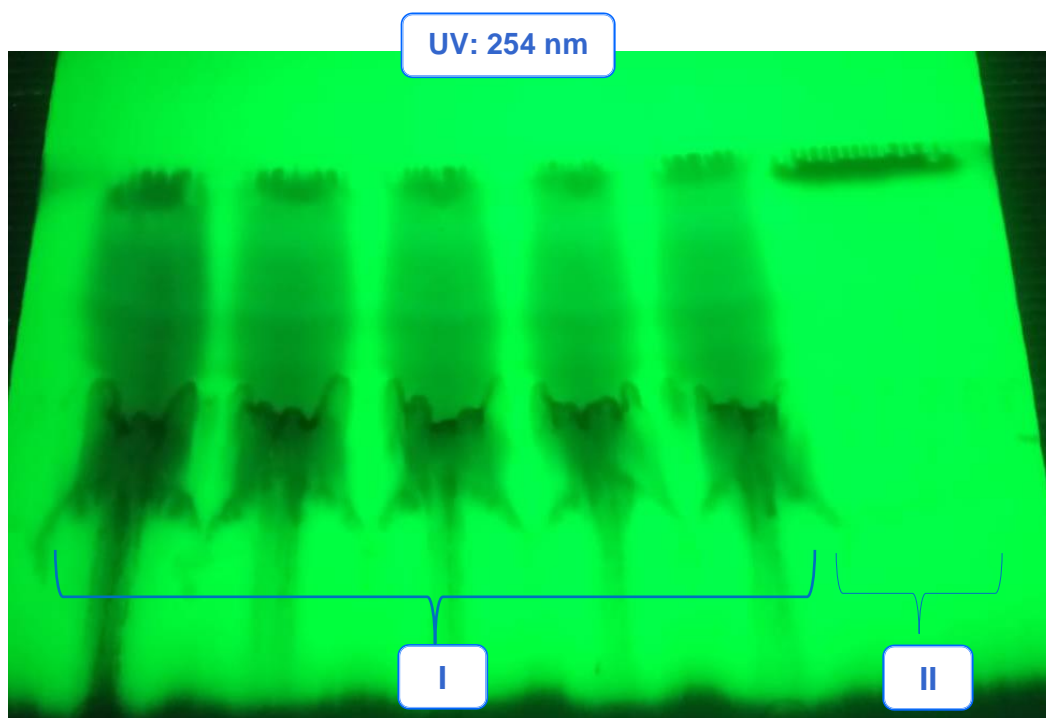
ANEXO 10: Reconocimiento de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”.
Ayacucho – 2020.



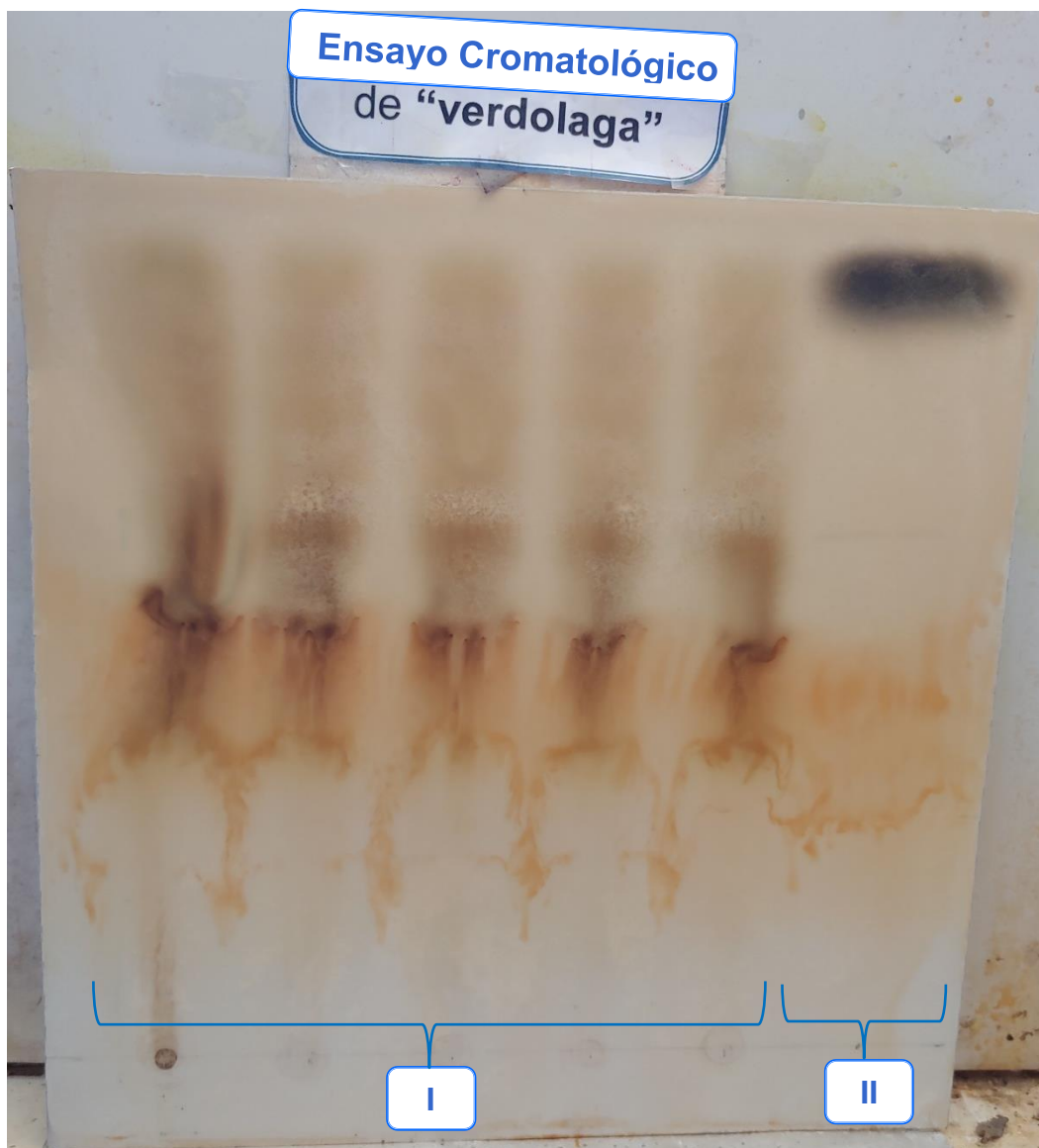
ANEXO 11: Reconocimiento de los metabolitos secundarios en la fracción del acetato de etilo de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



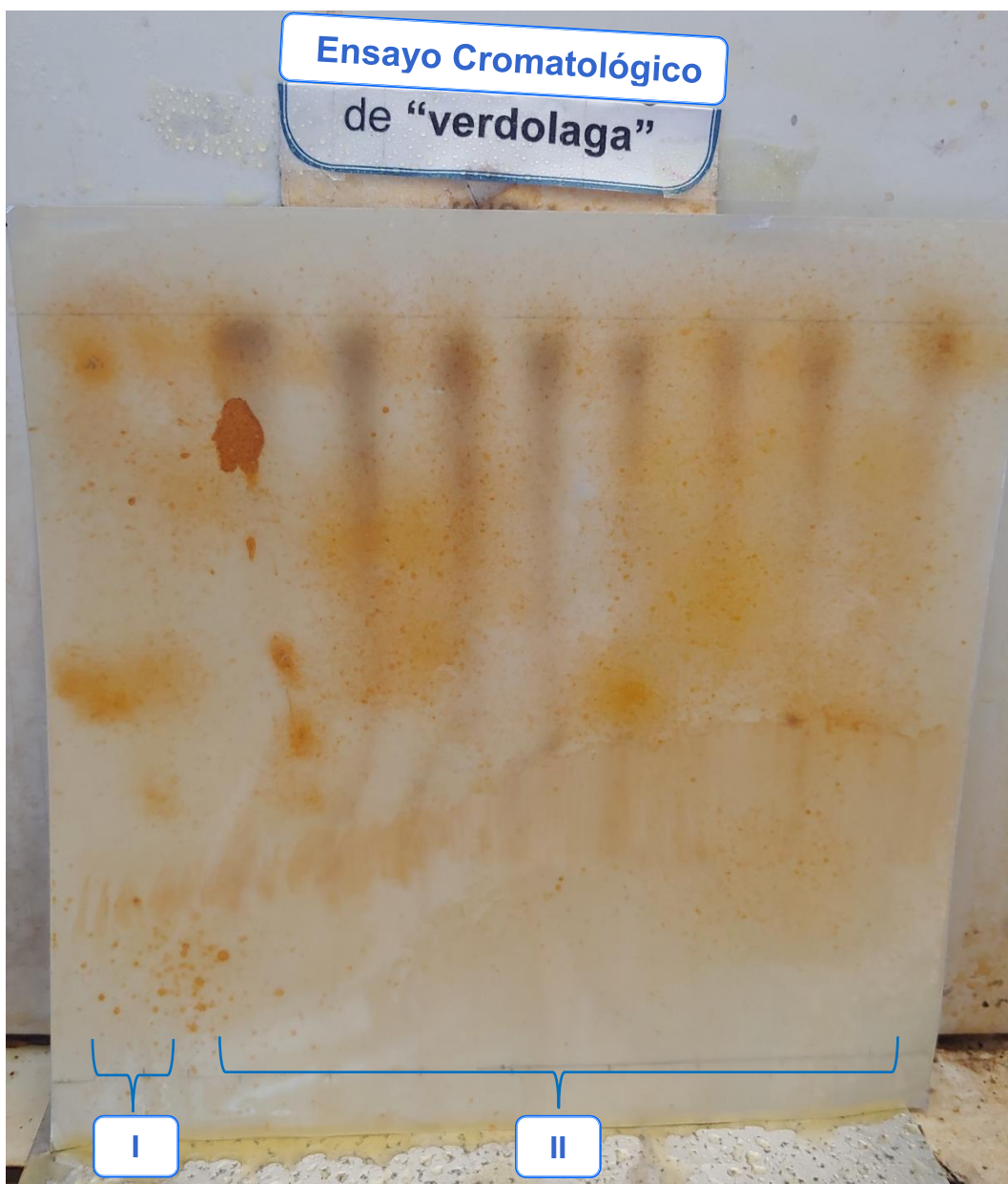
ANEXO 12: Análisis cromatográfico de los flavonoides (I) y la quercetina (II) en las cromatoplasmas de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, presentes en la fracción de acetato de etilo, vistos en la lámpara UV CAMAG a 254 nm y a 366 nm respectivamente. Ayacucho – 2020.



ANEXO 13: Cromatografía en capa fina de los flavonoides aislados (I), quercetina (II), revelados con cloruro férrico al 5%. Ayacucho – 2020.



ANEXO 14: Cromatografía en capa fina: Quercetina (I) y los flavonoides aislados (II), revelados con shinoda. Ayacucho – 2020.



ANEXO 15: Distribución de los grupos experimentales para la determinación del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” a distintas dosis. Ayacucho – 2020.

Grupo	Nº de ratas en experimento	Tratamiento	Dosis	Vía
I	8	Carragenina 1 %	0,1 mL	S. C
II	8	Indometacina	25 mg/kg	V. O
III	8	Flavonoide 1	50 mg/kg	V. O
IV	8	Flavonoide 2	100 mg/kg	V. O
V	8	Flavonoide 3	200 mg/kg	V. O

ANEXO 16: Medición del volumen de la pata inflamada con el equipo Pletisnómetro Digital LE 7500. Ayacucho – 2020.



ANEXO 17: Volumen promedio de inflamación en (mL) de la pata trasera en la evaluación del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” a distintas dosis. Ayacucho – 2020.

Tratamientos	Tiempo en horas					
	Basal	1h	2h	3h	4h	5h
Carragenina 1%	0,44	0,72	0,73	0,78	0,77	0,80
Indometacina 25 mg/kg	0,43	0,56	0,54	0,52	0,49	0,47
Flavonoide 50 mg/kg	0,42	0,53	0,49	0,47	0,45	0,43
Flavonoide 100 mg/kg	0,48	0,61	0,59	0,55	0,52	0,50
Flavonoide 200 mg/kg	0,46	0,68	0,69	0,63	0,55	0,49

ANEXO 18: Porcentaje de inflamación de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.

	% Inflamación	
Carragenina	84,53	100,00
Indometacina 25 mg/kg	10,34	11,76
Flavonoide 50 mg/kg	3,09	3,53
Flavonoide 100 mg/kg	3,89	4,71
Flavonoide 200 mg/kg	6,69	8,24

ANEXO 19: Resultado del análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y el estándar indometacina frente a la inflamación producida por la carragenina al 1%. Ayacucho – 2020.

% Inflamación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	39148,728	4	9787,182	101,461	0,000
Intra-grupos	3376,200	35	96,463		
Total	42524,928	39			

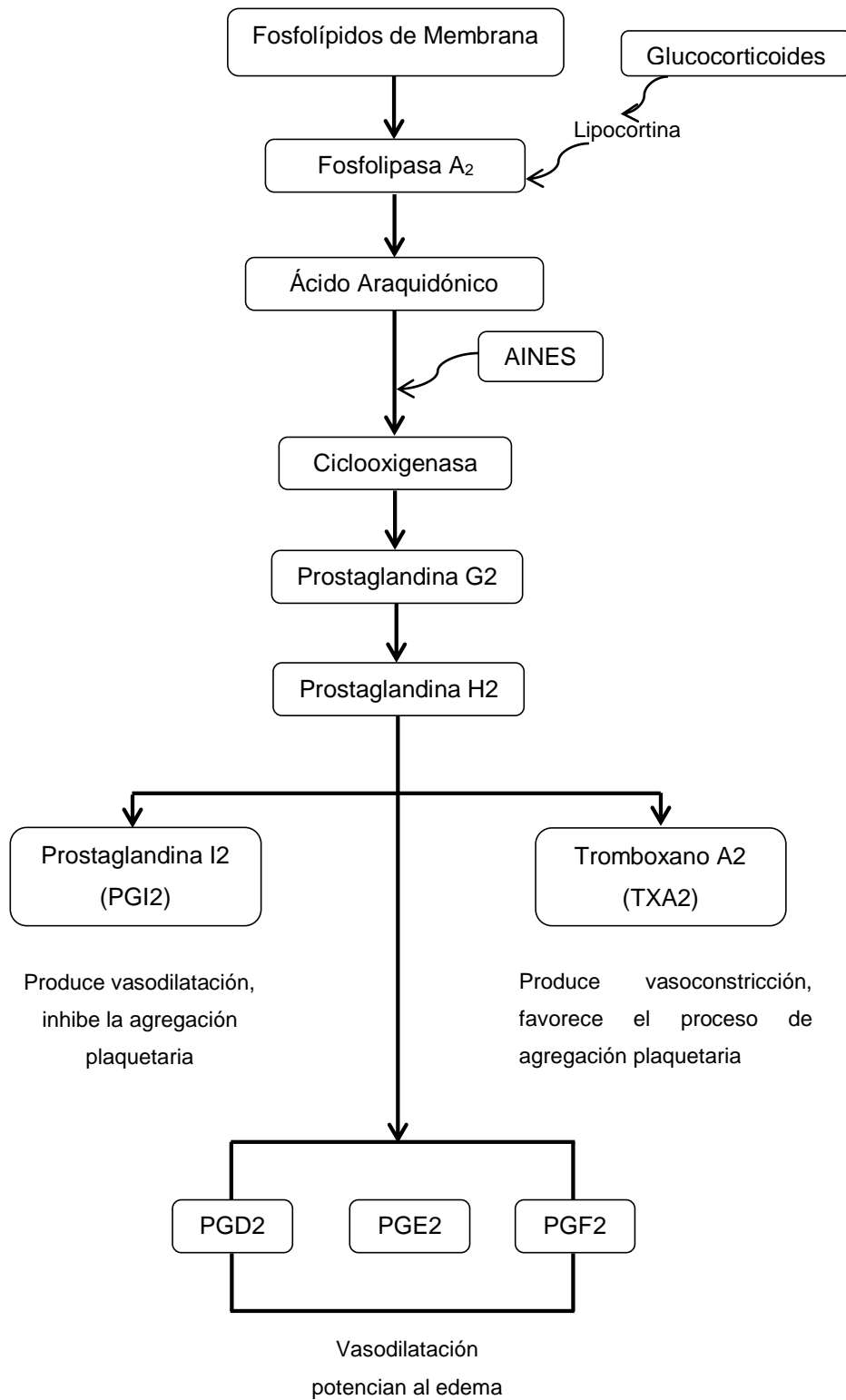
ANEXO 20: Prueba de HSD de Tukey para el porcentaje de eficacia de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” y el estándar (indometacina) frente a la inflamación producida por la carragenina. Ayacucho – 2020.

Área bajo la curva (AUC)					
Grupos de prueba	Sub conjunto para alfa = 0,05				
	N	1	2	3	4
Flavonoide C1 = 50 mg/kg	8	2,158			
Estándar (Indometacina 25 mg/kg)	8	2,364	2,364		
Flavonoide C2 = 100 mg/kg	8		2,518		
Flavonoide C3 = 200 mg/kg	8			2,793	
Control (Carragenina)	8				3,400
Sig.		0,164	0,432	1,000	1,000

Se visualiza las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

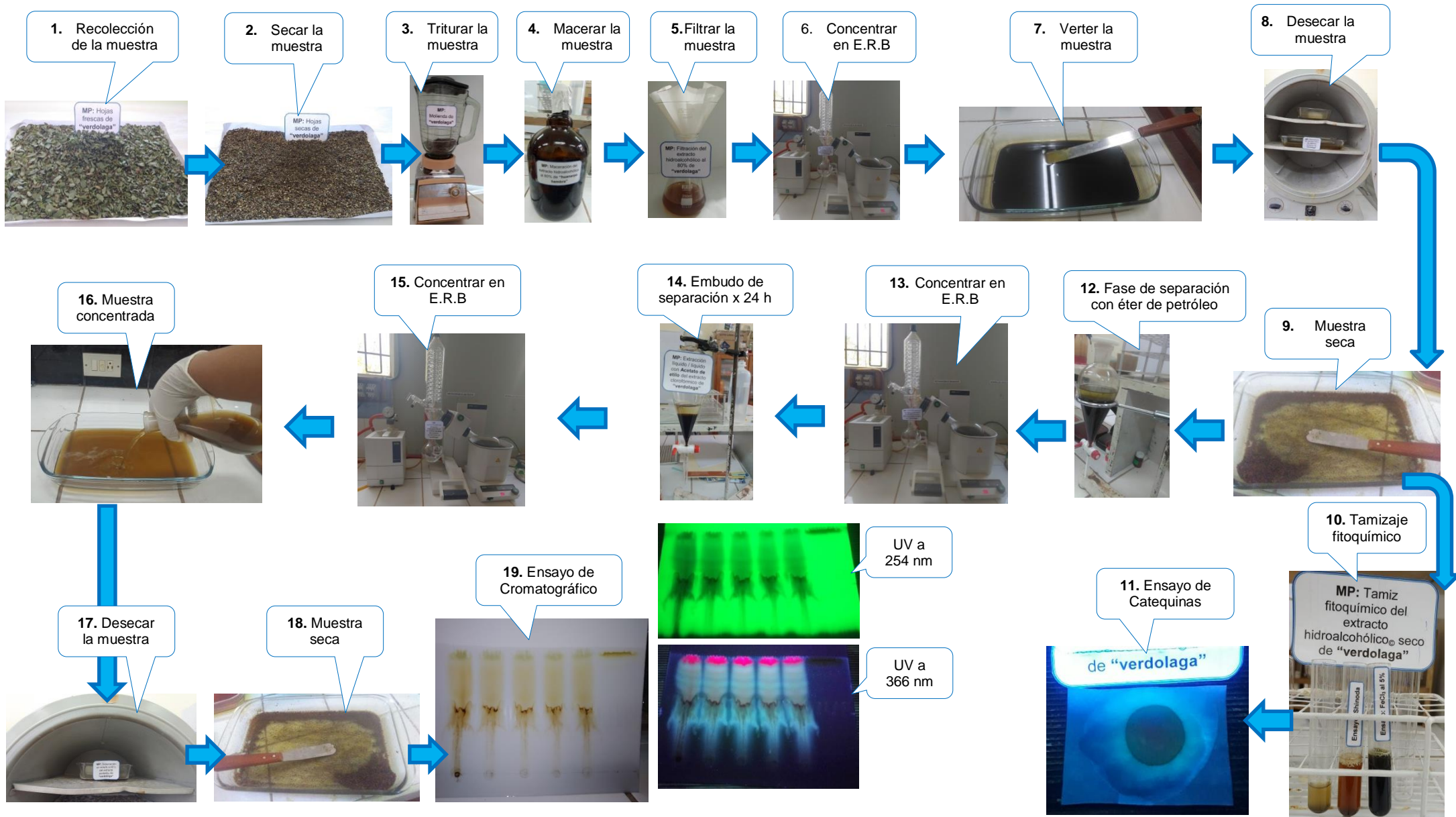
- Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 308,095.
- Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizó la media armónica de los tamaños de cada grupo. Los niveles de error de tipo I, no están garantizados.

ANEXO 21: Vías de biosíntesis de los eicosanoides.



PG = prostaglandina; AINE = fármacos antiinflamatorios no esteroides.²⁷

ANEXO 22: Flujograma del proceso de extracción de los flavonoides de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



ANEXO 23: Flujoograma del efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”. Ayacucho – 2020.



ANEXO 24: MATRIZ DE CONSISTENCIA.

TÍTULO: Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, en ratas albinas. Ayacucho – 2020.

PERSONAL INVESTIGADOR: LÓPEZ ALCARRAZ, Jhoszeline Salinova.

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
<p>Problema general ¿A qué concentración los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” tendrá efecto antiinflamatorio?</p>	<p>Objetivo general Demostrar el efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” a diferentes concentraciones.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” mediante tamizaje fitoquímico. Determinar la concentración con mayor efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” y comparar con el estándar (indometacina). Determinar el porcentaje de eficacia antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” frente al estándar (indometacina). 	<p><i>Portulaca oleracea</i> L.: Planta herbácea anual, resistente a la sequía, catalogada como mala hierba; contiene altas cantidades de ácidos grasos beneficiosos en omega-3, vitaminas y antioxidantes; utilizado como antibacteriano, antifúngico, analgésico, antiinflamatorio, anti fertilidad, relajante del musculo esquelético y propiedad cicatrizante.</p> <p>Flavonoides: Compuestos fenólicos con 15 átomos de carbono; presentan una gran capacidad antioxidante y antiinflamatoria.</p> <p>Antiinflamatorio: Capacidad inhibitoria a la ciclooxigenasa y 5-lipooxigenasa.</p>	<p>Ha: Los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” presentan efecto antiinflamatorio.</p> <p>Ho: Los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga” no presentan efecto antiinflamatorio.</p>	<p>Variable independiente Los flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”.</p> <p>Indicador: Concentraciones de 50, 100 y 200 mg/kg de flavonoides aislados de las hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”.</p> <p>Variable dependiente: Efecto antiinflamatorio.</p> <p>Indicador: Reducción del volumen de inflamación.</p>	<p>Tipo de investigación: Básica – Experimental.</p> <p>Población: Hojas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”.</p> <p>Muestra: 5 k de hojas secas de <i>Portulaca oleracea</i> L. “verdolaga”.</p> <p>Animales de experimentación 40 ratas albinas machos de la cepa Holtzman de pesos comprendidos entre 210 a 250g, de 3 meses de edad, procedentes de la Universidad Agraria la Molina de la ciudad de Lima.</p> <p>Control: Carragenina al 1%.</p> <p>Estándar: Indometacina 25 mg.</p> <p>Lugar de investigación: El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.</p> <p>Método experimental: Determinación del efecto antiinflamatorio: Se demostró por el método del edema plantar inducido con carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de las ratas.</p> <p>Análisis estadístico: Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas entre los ensayos con un nivel de confianza del 95% (p < 0,05). Las comparaciones entre las dosis se realizaron a través de la prueba de Tukey.</p>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

El Instructor en Primera Instancia, designado con RD N° 077-2021-UNSCH- FCSA/D,
emite la presente

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A Jhoszeline Salinova, LÓPEZ ALCARRAZ, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis Titulada: Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de Portulaca oleracea L. “verdolaga”, en ratas albinas. Ayacucho – 2020, ha alcanzado un índice de similitud de 30% (Treinta); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad y a petición de la interesada.

Ayacucho, 05 de agosto de 2021.



Firmado
digitalmente por
Marco R. Aronés Jara
Fecha: 2021.08.05
08:22:30 -05'00'

Instructor de Primera Instancia

Constancia N° v/008-2021



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD DE POSGRADO

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El Instructor en Segunda Instancia, designado con RD N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, hace constar por la presente, que la tesis Titulada **Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Pertulaca Oleracea L.* “Verdolaga”, en ratas albinas. Ayacucho – 2020.**

Cuyo Autora : **LÓPEZ ALCARRAZ, Jhoszelne Salinova**
Facultad : **Ciencias de la Salud**
Escuela Profesional : **Farmacia y Bioquímica**
Programa : **Pre-grado**
Asesor : **Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo**

Después de realizado el análisis correspondiente en **SOFTWARE TURNITIN**, Se ha verificado y sometido al análisis CON DEPÓSITO mediante el sistema de TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de similitud de **30% (Treinta por ciento)**.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentaje establecidos en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mediante el **USO DEL SOFTWARE TURNITIN**, el cual indica que no se debe superar el 30% para trabajos de pre-grado. Se declara, que el trabajo de investigación contiene un porcentaje aceptable de similitud, por lo que si se aprueba su originalidad.

En señal de conformidad y verificación se entrega la presente constancia de Originalidad con Depósito.

Ayacucho, 06 de agosto de 2021.



Docente Instructor, Segunda Instancia

Firmado digitalmente
por Héctor Huaraca
Rojas
Fecha: 2021.08.06
13:00:28 -05'00'

Efecto antiinflamatorio de los
flavonoides aislados de las
hojas de Portulaca Oleracea L.
"verdolaga", en ratas albinas.
Ayacucho - 2020.
por Jhoszelne Salinova López Alcarraz

Fecha de entrega: 06-ago-2021 11:33a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1628477049

Nombre del archivo: aca_oleracea_L_verdolaga_en_ratas_albinas._Ayacucho_2020..pdf (1.53M)

Total de palabras: 22104

Total de caracteres: 123177

Efecto antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de Portulaca Oleracea L. "verdolaga", en ratas albinas. Ayacucho - 2020.

INFORME DE ORIGINALIDAD

30%

INDICE DE SIMILITUD

30%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

11%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	es.scribd.com Fuente de Internet	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	eprints.ucm.es Fuente de Internet	1%
6	www.scribd.com Fuente de Internet	1%
7	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	www.revfarmacia.sld.cu Fuente de Internet	1%

9	documents.mx Fuente de Internet	1 %
10	1library.co Fuente de Internet	1 %
11	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	1 %
12	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1 %
13	q-organicauce.wikispaces.com Fuente de Internet	1 %
14	docs.com Fuente de Internet	1 %
15	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
16	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	1 %
17	repositorio.upagu.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	docs.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
19	Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuador Trabajo del estudiante	<1 %

20	docplayer.es Fuente de Internet	<1 %
21	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
22	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
24	bq.unam.mx Fuente de Internet	<1 %
25	qdoc.tips Fuente de Internet	<1 %
26	www.vademecum.es Fuente de Internet	<1 %
27	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
28	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
29	scielo.sld.cu Fuente de Internet	<1 %
30	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
31	hindilinks4u.in.net Fuente de Internet	<1 %

32	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
33	docslide.us Fuente de Internet	<1 %
34	Lía Romaní, Edwin Enciso, Víctor Cárdenas, Yovani M. Condorhuamán. "Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos de semillas de Persea americana Mill. "palta hass" frente a Escherichia coli", Ciencia e Investigación, 2018 Publicación	<1 %
35	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
36	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
37	Submitted to Universidad de San Martín de Porres Trabajo del estudiante	<1 %
38	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	<1 %
39	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1 %
40	ilustrados.com Fuente de Internet	<1 %
41	aquichan.redalyc.org Fuente de Internet	<1 %

<1 %

42

jppres.com
Fuente de Internet

<1 %

43

repositorio.uroosevelt.edu.pe
Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo