



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>

**UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas  
de *Typha domingensis* Persoon “totorá” a nivel preclínico**

**AUTOR:**

**RUBEN ROMERO MOREYRA**

**ICA – PERÚ**

**2020**

**DEDICATORIA**

A mi madre

## **AGRADECIMIENTOS**

A todas las personas que contribuyeron directa o indirectamente en la realización de esta investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional.

A mis asesores: Mg. Patricia Castillo y Dr. Ernesto Torres, quienes me guiaron de principio a fin.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUCCIÓN .....	viii
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	9
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	9
1.2. Formulación del problema .....	10
1.3. Justificación e importancia .....	10
1.4. Objetivos de la investigación .....	10
1.5. Hipótesis y variables .....	11
CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS .....	13
2.1. Antecedentes .....	13
2.2. Marco teórico .....	17
2.2.1. <i>Typha domingensis</i> Persoon .....	17
2.2.2. Radicales libres derivados del óxido nítrico y del oxígeno.....	18
2.2.3. Inflamación.....	19
2.2.4. Metabolitos del ácido araquidónico .....	20
2.3. Marco conceptual .....	21
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	24
3.1. Diseño de investigación .....	24
3.2. Locales y laboratorios .....	24

3.3. Materiales .....	24
3.5. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.....	27
3.5.1. Estudio fitoquímico .....	27
3.5.2. Evaluación de actividad antioxidante.....	30
3.5.3. Estudio farmacológico.....	31
3.6. Aspectos éticos.....	33
CAPITULO IV. RESULTADOS.....	34
4.1. Estudio fitoquímico .....	34
4.2. Actividad antioxidante según el método DPPH.....	36
4.3. Estudio farmacológico.....	40
4.4. Discusión .....	43
CONCLUSIONES .....	45
RECOMENDACIONES .....	46
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	47
ANEXOS.....	52

## RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” a nivel preclínico. El extracto se obtuvo por maceración en etanol de 96°, luego se identificó los metabolitos secundarios mediante una marcha fitoquímica. Para evaluar la actividad antiinflamatoria se aplicó el método de edema plantar inducido por carragenina en ratas albinas (*Rattus norvegicus* cepa Holtzman), divididas en cinco grupos de cinco se les administró vía oral uno de los siguientes tratamientos por grupo: 1,5 ml de suero fisiológico, 150, 300 y 600 mg/kg del extracto y el fármaco estándar naproxeno 50 mg/kg. Para evaluar la actividad antioxidante se aplicó el método de inhibición del radical libre DPPH, se utilizó las siguientes concentraciones del extracto: 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL; y como sustancia patrón, vitamina C. El extracto etanólico dio un rendimiento del 14%, se detectaron metabolitos secundarios como flavonoides, saponinas, taninos, leucoantocianidinas y triterpenos. Se obtuvo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de volumen de inflamación entre los grupos que recibieron tratamiento (300 y 600 mg/kg de extracto) respecto al control, estas diferencias se manifestaron a partir de la tercera hora después de la administración de carragenina. Al evaluar la actividad antioxidante se obtuvo un  $IC_{50}$  de 42,18 µg/mL. En conclusión, el extracto etanólico presenta actividad antioxidante y antiinflamatorio según los resultados obtenidos.

**Palabras clave:** *Typha domingensis* Persoon; antioxidante; antiinflamatorio; DPPH; carragenina.

## ABSTRACT

The study aimed to determine the antioxidant and anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *Typha domingensis* Persoon "cattail" leaves at the preclinical level. The extract was obtained by maceration in 96° ethanol, then the secondary metabolites were identified by phytochemical screening. To evaluate the anti-inflammatory activity, the carrageenan-induced plantar edema method was applied in albino rats (*Rattus norvegicus* strain Holtzman), divided into five groups of five, which were orally administered one of the following treatments per group: 1.5 ml of saline, 150, 300 and 600 mg/kg of the extract and the standard drug naproxen 50 mg/kg. To evaluate the antioxidant activity, the DPPH free radical inhibition method was applied, using the following concentrations of the extract: 5, 10, 25, 50, 50, 100 µg/mL; and as a standard substance, vitamin C. The ethanolic extract gave a yield of 14%; secondary metabolites such as flavonoids, saponins, tannins, leucoanthocyanidins and triterpenes were detected. Significant differences ( $p < 0.05$ ) were obtained in the volume of inflammation between the groups that received treatment (300 and 600 mg/kg of extract) with respect to the control, these differences were manifested from the third hour after the administration of carrageenan. When evaluating the antioxidant activity, an IC<sub>50</sub> of 42.18 µg/mL was obtained. In conclusion, the ethanolic extract shows antioxidant and anti-inflammatory activity according to the results obtained.

**Keywords:** *Typha domingensis* Persoon; antioxidant; anti-inflammatory; DPPH; carrageenan.

## INTRODUCCIÓN

Inflamación es una respuesta de los tejidos al daño con el objetivo de eliminar el agente lesivo. Es una respuesta beneficiosa pero que en condiciones inadecuadas puede ser perjudicial para el organismo y entre sus mediadores se encuentran los radicales libres. (1). Entre las enfermedades relacionadas al proceso inflamatorio se encuentran la artritis reumatoidea, aterosclerosis, fibrosis pulmonar, entre otras (1).

Los radicales libres son átomos o moléculas que tienen un electrón desapareado en su estructura por lo cual son muy reactivos. Para recuperar la estabilidad tienen que sustraer un electrón de otra molécula estable, convirtiendo a su vez a esta en un nuevo radical libre, iniciando así una reacción en cadena que puede ser mortal para la célula. (2).

En el presente trabajo de investigación se estudia la actividad antioxidante y antiinflamatoria de la planta herbácea *Typha domingensis* Persoon “totora”, especie vegetal de origen americano que es utilizada en la medicina popular, en afecciones inflamatorias, curación de heridas, y tratamiento de diarrea, entre otros padecimientos (3). Por lo tanto, se busca proporcionar fundamento científico al uso de las hojas de *T. domingensis* Persoon como potencial terapia antioxidante y para el alivio de afecciones inflamatorias.

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron: realizar un análisis fitoquímico e identificar metabolitos secundarios; determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria mediante el método de inhibición del radical libre DPPH y edema plantar inducido por carragenina respectivamente.

## **CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

La medicina tradicional, parte importante de la cultura de nuestros pueblos, no solo es un importante sector de atención informal de salud en el país, además son eficientes agentes comunitarios de salud, y aporta al fortalecimiento de la identidad local de la comunidad (4).

En la medicina tradicional, las plantas medicinales han desempeñado un rol fundamental como remedio para aliviar síntomas o curar enfermedades en las personas.

En la actualidad las comunidades, especialmente rurales, las utilizan, acumulando prácticas de selección, manejo y conservación de conocimientos que han transmitido de una generación a otra (5).

De acuerdo al conocimiento tradicional, las comunidades emplean diversas plantas para aliviar la inflamación, que es una respuesta del organismo ante una lesión y los radicales libres son unos mediadores importantes. Sin embargo, si la inflamación se activa de forma inadecuada puede resultar perjudicial para el organismo (1,6).

La inflamación está relacionada con enfermedades como, artritis reumatoidea, fibrosis pulmonar, aterosclerosis, etc., por otro lado, el estrés oxidativo generado por los radicales libres, está relacionado con las enfermedades de Alzheimer, cáncer, párkinson entre otras (7,8). Si bien es cierto existen medicamentos para tratar procesos inflamatorios, es común que en nuestro país se recurra a plantas medicinales para completar el tratamiento.

Algunos pobladores de la provincia de Chíncha refieren que la planta *T. domingensis* alivia diversos tipos de inflamación.

En cuanto a estudios científicos de *T. domingensis* “totora”, por ejemplo: Chai *et al.* (2014) concluye que las inflorescencias son fuente de antioxidantes naturales, quelantes de hierro e inhibidores de la glucosidasa (9), Kúpeli E. *et al.* (2011) determinó que posee actividad en la curación de heridas en ratones y ratas (10); Vasconcelos J. *et al.* (2009) determinó que la umbeliferona, extraída de *T. domingensis* atenúa las características de alteración de la inflamación de las vías respiratorias alérgicas (11).

## **1.2. Formulación del problema**

¿Tendrá actividad antioxidante y antiinflamatoria el extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” a nivel preclínico?

## **1.3. Justificación e importancia**

Se desarrolló la investigación debido al limitado e insuficiente registro de estudios locales, regionales o nacionales, de la actividad antiinflamatoria y antioxidante de la *Typha domingensis*. Inclusive en el extranjero existen pocos estudios publicados sobre la planta. Por lo tanto, se proporcionará fundamento científico para el uso de las hojas de *T. domingensis* Persoon “totora” como droga antiinflamatoria y antioxidante.

La investigación fue factible porque se contó con asesoría calificada y los recursos necesarios como laboratorio, materiales, equipo, medios económicos y material vegetal.

## **1.4. Objetivos de la investigación**

### **1.4.1. General**

Determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria a nivel preclínico del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* “totora”.

#### 1.4.2. Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* “totora” mediante una marcha fitoquímica,
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *T. domingensis* según método DPPH,
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *T. domingensis* según método edema plantar inducido por carragenina en ratas.

### 1.5. Hipótesis y variables

#### 1.5.1. Hipótesis general:

Extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” presenta actividad antioxidante y antiinflamatoria a nivel preclínico.

#### 1.5.2. Hipótesis específicas:

- El extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* presenta metabolitos secundarios de tipo flavonoides.
- El extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* presenta actividad antioxidante según el método DPPH.
- El extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* presenta actividad antiinflamatoria según el método de edema plantar inducido por carragenina.

#### 1.5.3. Variables

- Variable independiente:

Extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* “totora”.

- Variables dependientes:
  - Actividad antioxidante
  - Actividad antiinflamatoria.

**Tabla 1.** Operacionalización de variables

<b>VARIABLES</b>	<b>DIMENSIÓN</b>	<b>INDICADORES</b>
<b>Independiente</b>		
Extracto etanólico de las hojas de <i>Typha domingensis</i> .	Rendimiento	Gramos
	Identificación de metabolitos secundarios: Reacción de Shinoda.	Reacciones de coloración y/o precipitación. Nominal
	Reacción de Cloruro Férrico	Nominal
	Reacción de Ninhidrina	Nominal
	Reacción de Rosenheim	Nominal
	Reacción de Liebermann-Burchard	Nominal
	Prueba de espuma	
	Prueba de solubilidad	Soluble/poco soluble/insoluble
<b>Dependientes:</b>		
Actividad antioxidante	Neutralización del radical libre DPPH	% AA
Actividad antiinflamatoria	Disminución de edema	ml de agua

## CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS

### 2.1. Antecedentes

**Vasconcelos *et al.*, (2009)** en su investigación “Efectos de la umbeliferona en un modelo murino de inflamación alérgica de las vías respiratorias” evaluó los efectos terapéuticos de la umbeliferona, una cumarina de *Typha domingensis*. Aplicaron un modelo de asma bronquial en ratones (cepa BALB/c) las cuales fueron inmunizadas y estimuladas mediante la administración nasal de ovoalbúmina. El tratamiento con umbeliferona (60 y 90 mg / kg) causó una reducción marcada de la celularidad y el número de eosinófilos en los fluidos de lavado broncoalveolar de ratones asmáticos. Además, se observó una disminución en la producción de moco y la inflamación pulmonar. Se encontró también una reducción de IL-4, IL-5 e IL-13, pero no de IFN- $\gamma$ , en los fluidos de lavado broncoalveolar de los ratones tratados con umbeliferona, similar a la observada con dexametasona. Los niveles de IgE específica de ovoalbúmina no se alteraron significativamente después del tratamiento. En conclusión, sus resultados demuestran que la umbeliferona atenúa las características de alteración de la inflamación de las vías respiratorias alérgicas (11).

**De Oliveira *et al.*, (2010)** en su investigación “Análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico obtenido del rizoma de *Typha domingensis* Pers” tuvieron como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en esa especie vegetal. Utilizaron etanol absoluto para realizar la extracción. Sometieron el extracto a las siguientes reacciones: 1) Reacción de Shinoda, la cual fue positiva para posibles grupos de flavonoides. 2) Reacción con hidróxido de sodio, resultado negativo para flavonoides del grupo chalcones; 3) Reacción con cloruro férrico, la cual también fue

positiva para. Concluyeron que en el extracto etanólico del rizoma existe la presencia de compuestos polifenólicos.

**Barros *et al.*, (2010)** en su investigación “Propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias de la 7-hidroxycumarina aislado de *Typha domingensis* en modelos animales experimentales: potencial terapéutico para el control del dolor crónico inflamatorio” investigaron los efectos contra el dolor, inflamación y la fiebre de la 7-hidroxycumarina (7-HC) en ratas. Los efectos se probaron contra el retorcimiento inducido por ácido acético, la prueba de formalina, la prueba de deslizamiento de la cola, la hipernocicepción inducida por adyuvante de Freund completo (CFA), edema de la pata inducida por carragenina, la fiebre inducida por lipopolisacáridos y la prueba de la varilla rotatoria. Sus resultados mostraron que, 7-HC (3-60 mg/kg) produjo una antinocicepción relacionada con la dosis contra el retorcimiento inducido por ácido acético en ratas y en la prueba de formalina. En contraste, el tratamiento con 7-HC no previno la nocicepción térmica en la prueba de deslizamiento de la cola. Un solo tratamiento con 7-HC, 60 mg/kg, produjo un efecto antinociceptivo de larga duración contra la hipernocicepción inducida por CFA, un estímulo de dolor inflamatorio crónico. En particular, a 60 mg/kg por día durante 4 días, la administración de 7-HC produjo un efecto antinociceptivo continuo contra la hipernocicepción inducida por CFA. 7-HC (30-120 mg/kg) produjo efectos antiinflamatorios y antipiréticos contra la inflamación inducida por carragenina y la fiebre inducida por lipopolisacáridos, respectivamente. Además, se encontró que 7-HC es seguro con respecto a la inducción de úlceras. En la prueba de varillas rotativas, las ratas tratadas con 7-HC no mostraron alteraciones en el rendimiento motor. En conclusión, los efectos antinociceptivos y

antiinflamatorios prolongados de 7-HC, en asociación con su baja actividad ulcerogénica, indican que esta molécula podría ser un buen candidato para el desarrollo de nuevos fármacos para el control del dolor inflamatorio crónico y la fiebre.

**Akkol *et al.*, (2011)** en su investigación “El papel potencial de la inflorescencia de flores femeninas de *Typha domingensis* Pers. en el manejo de heridas” evaluaron la eficacia de la inflorescencia de flores femeninas de especies de *Typha* incluyendo *Typha domingensis* Pers. en curación de heridas en ratas. Se formularon pomadas a partir de inflorescencias de flores masculinas o femeninas de la planta en concentraciones de 5% y 10%. Después de eso, la inflorescencia de flores femeninas se sometió a extracciones sucesivas con disolventes en polaridad creciente; es decir, *n*-hexano, cloroformo, metanol y agua y se investigó la actividad de curación de la herida de cada extracto. Los modelos de herida de incisión circular y de escisión circular se utilizaron para evaluar el potencial de curación de los materiales de prueba en ratones y ratas. Las secciones de tejido también fueron evaluadas por técnicas histopatológicas. Los resultados muestran una notable actividad de cicatrización de heridas para la inflorescencia de flores femeninas a una concentración del 5% en base de ungüento y sus extractos metanólicos y acuosos. El efecto curativo se encontró comparable a la de la pomada de referencia Madecassol<sup>®</sup>. Los resultados de la evaluación histopatológica respaldaron el resultado de los modelos de incisión lineal y de escisión circular. Concluyeron que la inflorescencia de flores femeninas de *T. domingensis* mostró una notable actividad de curación de heridas en ratones y ratas, en los modelos probados (10).

**Chai et al., (2014)** en su investigación “Actividades antioxidantes, quelantes del hierro y anti-glucosidasa de *Typha domingensis Pers*” evaluó el perfil fitoquímico, así como las actividades de antioxidantes, quelantes de hierro y antiglucosidasas *in vitro* de *T. domingensis Pers*. Utilizó como muestra extracto acuoso de las inflorescencias de flores masculinas, femeninos y frutos maduros de la planta. Los polifenoles totales, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y pro-antocianidinas en los extractos acuosos respectivos de flores masculinas y femeninas, y los frutos se determinaron mediante procedimientos establecidos. La actividad antioxidante se evaluó mediante el análisis de los radicales aniónicos superóxidos y la eliminación del óxido nítrico. La actividad quelante del hierro se evaluó según un método basado en ferrozina. La actividad antiglucosidasa se evaluó utilizando 4-nitrofenil  $\alpha$ -D-glucopiranosido como sustrato. Concluyen en que *T. domingensis* es una buena fuente de antioxidantes naturales, quelantes de hierro e inhibidores de la glucosidasa. El extracto de fruta de la planta es un agente antioxidante y anti-glucosidasa superior a los extractos de flores masculinas y femeninas. El extracto de flor femenina, por el contrario, es el agente quelante de hierro más potente entre los tres extractos. Tanto la actividad antioxidante como la anti-glucosidasa pueden atribuirse a los contenidos fenólicos de los extractos (9).

**Pareja (2016)**, en su tesis “Evaluación de la eficiencia de la remoción de nutrientes del efluente de la PTAR de la empresa Esmeralda CORP S.A.C. mediante el uso de humedales artificiales, empleando la especie *Typha domingensis Pers*. (totora)” evaluó la capacidad de la planta de reducir niveles de nitrógeno y fósforo. El humedal artificial presentó las siguientes dimensiones: 3 m de largo, 1 m de ancho, 0,8 de profundidad efectiva y pendiente de 1%. Conformado por dos sustratos, el primer sustrato fue de

arena gruesa y el segundo de confitillo 3/8", ambos de 0,3 m de profundidad; y, en la parte superior se sembró plantones de totora. La operación se realizó en dos etapas: período de adaptación de tres meses, y período de funcionamiento estándar durante seis meses. Se reportó una remoción final de 87,8% de N-total, 90% de N-amoniaco y 99,6% de N-nitrato; con relación al fósforo, se registró 94,5% de P-total, 99,4% de ortofosfatos y 94,3% de anhídrido fosfórico de remoción final. Los resultados mostraron una alta eficiencia por lo cual el humedal podría ser utilizado en zonas rurales que carezcan de redes de alcantarillado público (12).

**Chen et al.**, en su investigación “Capacidad antioxidante de los extractos de *Typha angustifolia* y dos flavonoides activos” tuvieron como objetivo evaluar las actividades antioxidantes de los extractos de etanol y agua y dos componentes del polen. Los extractos (0,8–2,6 mg/ml) se midieron mediante DPPH y la actividad reductora del cloruro férrico (1,7–2,6 mg/ml). El extracto de etanol mostró valores de IC<sub>50</sub> en DPPH (39,51 ± 0,72) y actividad reductora de Fe<sup>3+</sup> (82,76 ± 13,38), mayor que el extracto de agua (50,85 ± 0,74) y (106,33 ± 6,35), respectivamente. Concluyeron que los extractos de etanol y agua del polen de su planta problema tienen una actividad de eliminación de radicales significativa y una capacidad de reducción de capacidad dependiente de la dosis. (13).

## **2.2. Marco teórico**

### **2.2.1. *Typha domingensis* Persoon**

Hierba acuática, de origen americano, distribuido en Europa, Asia y África, crece frecuentemente en cuerpos de agua como estanques y canales de riego. Se le conoce como cola de gato, totora, tule, etc. Es enraizada y de ciclo perenne, alcanza los 2,5 m

de altura. Las hojas generalmente exceden o igualan la altura de las espigas, parte superior de las vainas atenuada hacia la lámina, generalmente asimétricas, pero algunas veces simétricas, láminas hasta de 1,5 m de largo y de 0,8 a 1,3 cm de ancho.

Su inflorescencia es de color moreno claro, con una o más brácteas foliáceas caducas.

Las espigas masculinas miden hasta 42 cm de largo y 1,5 cm de ancho y las femeninas 48 cm de largo y 2 cm de diámetro, en general separadas por 0,7 a 5 cm. Presentan fruto fusiforme, de 1 a 1,5 mm de largo.

Usos: elaboración de sillas, esteras etc. Uso medicinal como desinflamante y curación de heridas y antidiarreico (10,14).

### **2.2.2. Radicales libres derivados del óxido nítrico y del oxígeno**

Estos radicales libres desarrollan un papel importante en la respuesta inflamatoria. El ON, que se produce en distintas células, desempeña múltiples papeles en la inflamación, entre otros, la relajación del músculo liso y el antagonismo de la adhesión, la agregación y la desgranulación de las plaquetas; además, funge como un regulador endógeno del reclutamiento leucocitario. El bloqueo de la síntesis del ON puede aumentar la adhesión leucocitaria, mientras que la provisión de ON exógeno reduce el número de leucocitos. Así, la síntesis de ON parece ser un mecanismo compensador que limita la fase celular de la inflamación. La producción anómala de ON en las células del endotelio vascular se relaciona con los cambios inflamatorios que se presentan en la aterosclerosis. El ON y sus derivados también tienen acciones antimicrobianas, lo que lo convierte en un mediador del hospedero contra la inflamación.

Los radicales libres de oxígeno pueden liberarse hacia el medio extracelular a partir de los leucocitos tras la exposición a microbios, citocinas y complejos inmunitarios, o durante el proceso de fagocitosis que se da durante la fase celular del proceso inflamatorio. El radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo son las principales especies que se producen en la célula. Éstas pueden combinarse con el ON para constituir otros productos intermedios reactivos del nitrógeno, capaces de intensificar el proceso inflamatorio y generar un daño tisular mayor (8).

### **2.2.3. Inflamación**

Es la reacción de los tejidos vascularizados a la lesión. Se caracteriza por mediadores inflamatorios, como el complemento, el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , el factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF, por sus siglas en inglés), por neutrófilos, especies reactivas de oxígeno y el amiloide sérico, así como el desplazamiento de fluidos. Por lo general, la inflamación localiza y elimina microbios, partículas extrañas y células anómalas.

Los signos esenciales de la inflamación son: rubor (eritema), tumor (tumefacción), calor (aumento de la temperatura), dolor y *functio laesa* (pérdida de la función). Además de estos signos que aparecen en el sitio de la lesión, pueden presentarse manifestaciones sistémicas o constitucionales, al tiempo que los mediadores químicos que se sintetizan en el sitio de la inflamación ingresan al sistema circulatorio.

La inflamación puede dividirse en aguda y crónica (1,8).

- **Inflamación aguda**

Es una respuesta rápida del anfitrión que sirve para hacer llegar leucocitos y proteínas plasmáticas, como los anticuerpos, al foco de infección o lesión tisular.

Está constituida por tres componentes esenciales: a) alteraciones del calibre vascular que aumentan el flujo de sangre; b) cambios estructurales de los microvasos que permiten la salida de la circulación de las proteínas plasmáticas y los leucocitos, y c) emigración de los leucocitos de la microcirculación, acumulación de los mismos en el foco de lesión y activación para eliminar el agente lesivo.

- **Inflamación crónica**

La inflamación crónica tiene un curso prolongado (semanas o meses) y en este período coexisten la inflamación, las lesiones tisulares y los intentos de reparación en combinaciones variables. Puede aparecer tras una inflamación aguda, o comenzar de forma insidiosa, como una respuesta de bajo grado indolente sin manifestaciones de una reacción aguda. La inflamación crónica es la causa de la lesión tisular existente en algunas enfermedades como la artritis reumatoide, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, entre otras.

#### **2.2.4. Metabolitos del ácido araquidónico**

- **Prostaglandinas (PG).** Intervienen en las reacciones vasculares y sistémicas del proceso inflamatorio. Se producen por las acciones de dos ciclooxigenasas, la COX-1 que se expresa de forma constitutiva y la COX-2, inducible. Los primordiales para la inflamación son PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , PGI<sub>2</sub> (prostaciclina) y TxA<sub>2</sub> (tromboxano). El TxA<sub>2</sub>, es un poderoso agregante plaquetario y vasoconstrictor. La prostaciclina es un vasodilatador, inhibidor de la agregación plaquetaria y también potencia los efectos aumentadores de la permeabilidad y

quimiotáticos de otros mediadores. La PGD 2 es la principal prostaglandina producida en los mastocitos; junto con la PGE 2 (ampliamente distribuida), produce vasodilatación y aumento de la permeabilidad de las vénulas poscapilares, de forma que induce la formación de edema.

- Leucotrienos. Son producidas por las enzimas lipooxigenasas; atraen a los leucocitos y ejercen efectos vasculares. Los leucotrienos aumentan la permeabilidad vascular e inducen broncoespasmo con mucha más potencia que la histamina.
- Lipoxinas. Contrario a leucotrienos y prostaglandinas, las lipoxinas son inhibidoras de la inflamación. Sus principales acciones son inhibir el reclutamiento de los leucocitos y los componentes celulares de la inflamación.

(1).

### **2.3. Marco conceptual**

#### **2.3.1. Droga**

Vegetales ya sea en bruto u obtenido por sencillas maniobras que contiene los principios activos con actividad farmacológica para su uso directo o para la elaboración de medicamentos (15).

#### **2.3.2. Principio activo**

Sustancia química responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico de una droga (15).

#### **2.3.3. Marcha fitoquímica**

Serie de métodos para la detección de los diferentes constituyentes químicos de las plantas, los cuales se basan en la extracción de pequeñas cantidades del material vegetal con solventes apropiados en la aplicación de pruebas de coloración y/o precipitación (16)

#### **2.3.4. Inflamación**

Es una respuesta del tejido ante una lesión. Esta caracterizado por eritema, tumefacción, aumento de temperatura y dolor, con los cuales se busca eliminar la causa inicial de la lesión, el tejido dañado y generar tejido nuevo. Se pueden clasificar en inflamación aguda y crónica (8).

#### **2.3.5. Inflamación aguda**

Es la respuesta temprana de los tejidos locales y vasos sanguíneos a la lesión. Tiene una duración corta (minutos o días); se caracteriza por el exudado de fluidos y componentes del plasma, además por la migración de leucocitos (8).

#### **2.3.6. Inflamación crónica**

Tiene una permanencia mayor (días a años) y está asociado con la presencia de linfocitos y macrófagos, proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis de tejido (8).

#### **2.3.7. Antioxidante**

Sustancia de origen natural o artificial con capacidad para neutralizar y proteger a un sistema biológico frente a radicales libres, como los radicales derivados de oxígeno, nitrógeno y los radicales lipídicos (17)

#### **2.3.8. Antiinflamatorio**

Materia que reduce la inflamación (15)

### **2.3.9. Radical libre**

Átomo o molécula con uno o más electrones desapareados. Los  $RL\cdot$  están representados un punto sobre el símbolo del átomo o grupo de átomos donde se encuentra el electrón desapareado ( $RL\cdot$ ) (18).

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **3.1. Diseño de investigación**

- Estudio fitoquímico: descriptiva
- Actividad antioxidante: experimental
- Actividad antiinflamatoria: experimental

### **3.2. Locales y laboratorios**

Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga:

- Laboratorio de Bioquímica
- Laboratorio de Farmacología

### **3.3. Materiales**

#### **3.3.1. Materiales biológicos.**

- Hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora”.
- Ratas albinas machos, especie *Rattus norvegicus* cepa Holtzman de 6 semanas de vida; 150-200g de peso; adquiridas en el bioterio del Instituto Nacional de Salud.

#### **3.3.2. Materiales de laboratorio**

- Probetas
- Pipetas
- Propipetas
- Vasos de precipitado
- Soporte universal
- Pera de bromo

- Tubos de ensayo
- Rejillas
- Viales
- Mortero y pilón
- Papel de filtro
- Guantes
- Mascarillas
- Sonda metálica adaptado para ratas

### **3.3.3. Equipos y reactivos**

Equipos:

- Molino manual
- Estufa
- Balanza analítica
- Pletismómetro digital
- Espectrofotómetro
- Cocinilla eléctrica

Reactivos:

- Ácido clorhídrico (Merck)
- Ácido sulfúrico concentrado
- Agua destilada
- Alcohol amílico
- Almidón

- Anhídrido Acético
- Cloruro de sodio
- Diclorometano
- Etanol 96°
- 2,2-diphenil-1-picrilhidracil (DPPH Sigma)
- Limaduras de Magnesio
- Hidróxido de amonio
- Hidróxido de sodio
- Limadura de Magnesio
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Hager
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Molish
- Reactivo de Rosenhein
- Solución de gelatina
- Sulfato de sodio anhidro
- Tricloruro férrico
- Carragenina  $\lambda$

### **3.5. Técnicas y procedimientos de recolección de datos**

#### **3.5.1. Estudio fitoquímico**

##### 3.5.1.1. Recolección y tratamiento del material vegetal.

Se recolectó las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” en el centro poblado de Lurinchincha, distrito de Chincha Baja, provincia de Chincha, y departamento de Ica.

Una muestra fue llevada al herbario del Museo de Historia Natural de la UNMSM para su determinación botánica. Fue analizado por Mg. María Isabel La Torre y tiene la siguiente posición taxonómica según Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Typhales

Familia: Typhaceae

Género: *Typha*

Especie: *Typha domingensis* Persoon

Nombre vulgar: “totora”

Se procedió con: la selección, descartando las hojas en mal estado; limpieza, con un paño húmedo; y secado durante 26 días sobre papel kraf, en un lugar ventilado, evitando la exposición directa al sol. Se complementó el secado en estufa a 37 °C durante 24 horas. Una vez seco, se realizó la molienda empleando un molino manual (16).

##### 3.5.1.2. Obtención del extracto etanólico.

El proceso de extracción de los principios activos se hizo por maceración con etanol de 97° a temperatura ambiente. Se maceró 750 g de material vegetal molido en 8,25 L de etanol durante 10 días realizando agitaciones periódicas.

Cumplido el plazo, se realizó el filtrado con papel de filtro, obteniéndose dos partes: por un lado, extracto líquido con principio activos y por el otro, residuo de la droga (bagazo).

Se volvió a realizar el macerado con el bagazo, en 4 L de etanol, durante 7 días. Finalizado los días del segundo macerado, también se realizó el respectivo filtrado. Al igual que en el caso anterior, se obtuvo, por un lado, extracto líquido con principio activos y por el otro, residuo de la droga.

Los extractos líquidos de *T. domingensis* obtenidos en el primer y segundo macerado fueron homogenizados y puestos en un lugar adecuado (ventilado y no expuesto directo al sol), para evaporación del disolvente, a temperatura ambiente, durante 13 días. Al cabo de ese tiempo se logró evaporar 2/3 del volumen de disolvente por lo que fue llevado a la estufa a 37 °C durante 24 horas para finalmente obtener el extracto seco.

#### 3.5.1.3. Rendimiento y solubilidad.

Se determinó el porcentaje de rendimiento de extracto seco a partir de 750g del material vegetal seco y molido.

La prueba de solubilidad se realizó para probar la capacidad del extracto de disolverse en los siguientes solventes: Agua, agua- etanol (50:50), etanol, diclorometano y acetato de etilo; se tomaron 5 viales y en cada uno se colocaron 30 mg de la muestra problema a los que se añadió 1 ml de un solvente y se agitó.

#### 3.5.1.4. Marcha fitoquímica preliminar.

La marcha se realizó para la obtención de las diferentes fracciones del extracto (A, B, C, D, E y F), utilizando solventes de diferentes polaridades, según Lock O. Se continuaron con las reacciones de coloración y/o precipitación para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto (16). Ver Tabla 2.

**Tabla 2.** Reacciones de identificación

<b>FRACCIÓN</b>	<b>METABOLITO</b>	<b>REACCIÓN</b>
<b>A</b>	Grupos fenólicos libres Taninos	Fe Cl <sub>3</sub> Fe Cl <sub>3</sub> y solución gelatina
<b>B</b>	Triterpenos y/esteroides Quinonas	Lieberman – Burchard Bornträger
<b>C</b>	Triterpenos y/o esteroides Alcaloides	Lieberman – Burchard Dragendorff, Meyer, Hager
<b>D</b>	Triterpenos y/o esteroides Alcaloides Flavonoides Leucoantocianidinas y catequinas	Lieberman – Burchard Dragendorff, Meyer, Hager Shinoda Rosenhein
<b>E</b>	Flavonoides Leucoantocianidinas y catequinas	Shinoda Rosenhein
<b>F</b>	Azúcares  Saponinas	Molish Lugol y de Feling Prueba de la espuma

### 3.5.2. Evaluación de actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método de capacidad de neutralizar el radical libre DPPH (2,2-difenil-1 picrilhidrazil).

**Fundamento del método.** La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (compuesto puro o extracto) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta al color amarillo a medida que disminuye la concentración del radical libre; el que se lee en el espectrofotómetro a 517 nm después de veinte a treinta minutos de reacción (19,20).

**Procedimiento.** Se preparó la solución *stock* de DPPH a una concentración de 1,2 mg/10mL. Se midió absorbancia a 517nm.

Se trabajó con una solución *stock* de la muestra a una concentración 5 mg/mL, a partir del cual se prepararon 5 disoluciones cuya concentración final fue de 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL.

De cada una de las diluciones, se tomó 100 µL y se mezcló con la solución de DPPH. Se dejó en reposo por 30 minutos; se lee en el espectrofotómetro; y todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante y la concentración efectiva media (IC<sub>50</sub>) (19).

Se utilizó vitamina C como patrón de comparación. A partir de una solución stock de 1 mg/ml se prepararon cinco diluciones a una concentración final de: 2; 4; 6; 8; 10 µg/ml. A partir de los cuales se determinó su IC<sub>50</sub>.

El porcentaje de actividad antioxidante (%AA) se halló haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\%AA = 100 - \left( \frac{ABS_{SM} - ABS_{BLM}}{ABS_{DPPH}} \right) \times 100$$

Donde:

%AA = Porcentaje de actividad antioxidante

ABSM = absorbancia de la muestra

ABSBLM = absorbancia del blanco de la muestra

ABS DPPH = absorbancia del DPPH

### **Análisis de datos**

Todas las pruebas se realizan por triplicado. Se tratan los datos mediante un análisis de regresión lineal utilizando Microsoft Office Excel 2019.

### **3.5.3. Estudio farmacológico**

#### **Método edema plantar inducida por carragenina**

Técnica que se utiliza para evaluar la actividad antiinflamatoria de sustancias. Descrita inicialmente por Winter *et al.* (21) y luego modificado por Sugishita *et al.* (22).

#### **Fundamento**

Se basa en la administración subcutánea de carragenina tipo lambda en la aponeurosis plantar de la rata. Como respuesta se genera una inflamación bifásica, la primera mediada por histamina, serotonina y quininas. La segunda mediada por prostaglandina, bradicinina, proteasa y lisosoma. El efecto inflamatorio máximo se observa aproximadamente a las 3 horas. La sustancia o extracto problema con probable actividad antiinflamatoria se administra antes que la carragenina (23,24,25,26).

## Procedimiento

Se emplearon 25 ratas Holtzman, las cuales después de su adquisición se sometieron a un proceso de adaptación: durante una semana, temperatura  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ; ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad; libre acceso a comida y agua; 12 horas antes del inicio del ensayo solo acceso al agua. Durante el experimento nada de beber ni comer.

Se formaron de modo aleatorio cinco grupos de cinco ratas y se les administró por vía oral el tratamiento correspondiente a cada grupo (Tabla 3). Media hora después 0,1 ml de carragenina al 1% en la aponeurosis de la pata trasera derecha de cada animal de experimentación (21,26).

**Tabla 3.** Tratamiento experimental antiinflamatorio

GRUPO	TRATAMIENTO	DOSIS
G1: control	Solución salina	1,5 ml
G2: estándar	Naproxeno	50 mg/kg
G3: extracto etanólico	<i>T. domingensis</i>	150 mg/kg
G4: extracto etanólico	<i>T. domingensis</i>	300 mg/kg
G5: extracto etanólico	<i>T. domingensis</i>	600 mg/kg

El volumen de la pata fue medido con el pletismómetro digital a las 0; 1; 2; 3; 4; 5 y 6 horas después de inducir la inflamación (27).

El porcentaje de inflamación se determinará según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{(V_{tx} - V_{t0})}{V_{t0}} \times 100$$

Donde:

$V_{tx}$  = volumen de la pata inflamada a un tiempo X

$V_{t0}$  = volumen normal de la pata.

De acuerdo a los datos, se determina los porcentajes de inflamación.

### **Análisis de datos**

Los datos se examinaron mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA one-way), para analizar si existe diferencia significativa entre los grupos experimentales. También prueba post hoc de Dunnett para identificar qué grupo es significativamente diferente del control. Se utilizó el programa IBM® SPSS® *statistics* versión 25 (28,29).

### **3.6. Aspectos éticos**

- Los resultados obtenidos se registran sin ningún tipo de modificación.
- Se otorga el crédito correspondiente a las distintas fuentes consultadas.
- Cantidad mínima posible de ratas para obtener significancia estadística.
- Manejo y cuidado de las ratas aplicando recomendaciones del INS (30).

## CAPITULO IV. RESULTADOS

### 4.1. Estudio fitoquímico

#### 4.1.1. Rendimiento y solubilidad

La maceración de 750g de hojas secas y molida tuvo un rendimiento de 105g de extracto seco, que equivale 14%.

Los análisis de solubilidad arrojaron los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 4.** Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* "totora"

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua	+
Agua-etanol 50:50	++
Etanol	+++
Diclorometano	++
Acetato de etilo	+++

Leyenda: poco soluble (+), soluble (++), muy soluble (+++)

#### 4.1.2. Detección de metabolitos secundarios

Los resultados de los ensayos directos para la identificación de metabolitos en las distintas fracciones del extracto etanólico de *T. domingensis* (16) se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Marcha fitoquímica preliminar del extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis*.

<b>FRACCIÓN</b>	<b>METABOLITO</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>A</b>	Taninos	FeCl <sub>3</sub>	+
		Gelatina	+
	Flavonoides	Shinoda	-
<b>B</b>	Esteroides y/o Triterpenos	Liebermann-Burchard	++
	Antraquinona	Bornträger	-
<b>C</b>	Esteroides y/o Triterpenos	Liebermann-Burchard	+
		Alcaloides	Dragendorff
		Ac. pícrico	-
		Mayer	-
<b>D</b>	Flavonoides	Shinoda	-
	Leucoantocianidinas	Rosenhein	++
	Alcaloides	Mayer	-
		Acido pícrico	-
		Dragendorff	-
<b>E</b>	Tanino	FeCl <sub>3</sub>	+
	Flavonoides	Shinoda	+++
	Leucoantocianidinas	Rosenhein	+
	Antraquinona	Bornträger	-
<b>F</b>	Saponinas	Prueba de espuma	+++

Leyenda: No se evidencia presencia (-); Presencia de trazas (+); Presencia moderada (++); Presencia abundante (+++)

Como indica en la Tabla 5 los metabolitos secundarios aparentemente mayoritarios son: flavonoides, saponinas, leucoantocianidinas, triterpenos, y taninos. Los resultados apoyan las hipótesis de estudio planteadas.

#### 4.2. Actividad antioxidante según el método DPPH

A continuación, se presenta los resultados como la media del porcentaje de actividad antioxidante (%AAO) de la muestra problema a diferentes concentraciones y también la concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>).

También se muestra los valores de la vitamina C la cual es usada como patrón de comparación.

**Tabla 6.** Actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon y del patrón vitamina C.

MUESTRA	CC µg/ml	%AAO	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<i>T. domingensis</i>	5	16,17	42,18
	10	23,42	
	25	44,74	
	50	64,87	
	100	85,78	
Vit C	2	20,91	5,5
	4	33,69	
	6	47,89	
	8	76,72	
	10	92,64	

En la Figura 1 se presenta una gráfica comparativa entre el porcentaje de actividad antioxidante de la muestra problema y del patrón vitamina C. Vemos la existencia de una relación entre la concentración y la capacidad de neutralizar el radical libre DPPH.

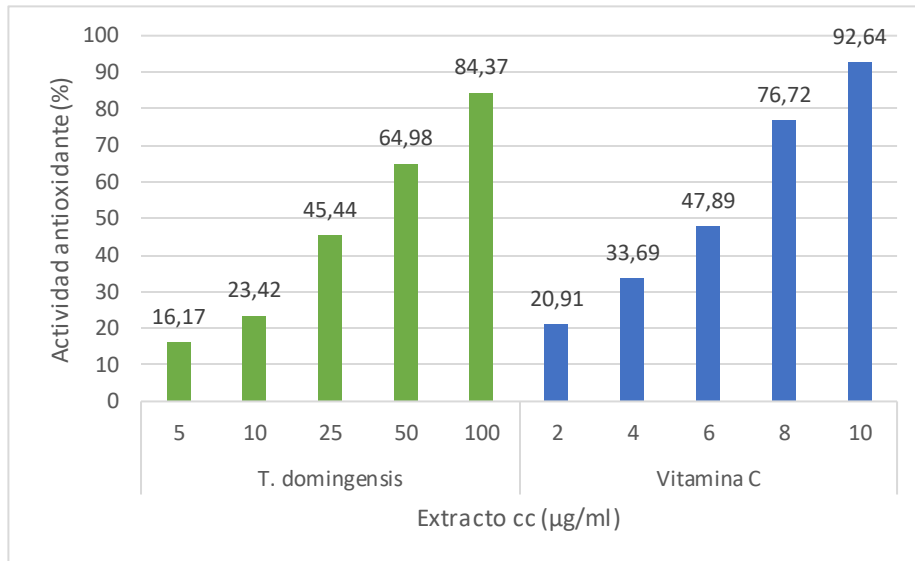


Figura 1. Porcentaje de actividad antioxidante del extracto etanólico de *T. domingensis* y la vitamina C.

En la Figura 2 se presenta un análisis de regresión lineal, a través de la gráfica de dispersión. El eje X representa la variable independiente (*T. domingensis*) y el eje Y la variable dependiente (% AAO) y se tienen los siguientes resultados:

Una tendencia ascendente por lo que la correlación es positiva (mayor concentración de extracto significa mayor % AAO).

El coeficiente de determinación:  $R^2 = 0.9306$

La ecuación de regresión lineal:

$$y = 0,7173x + 19,739$$

Con la ecuación se puede pronosticar la concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>), luego se tiene como resultado IC<sub>50</sub> igual a 42,18 µg/ml.

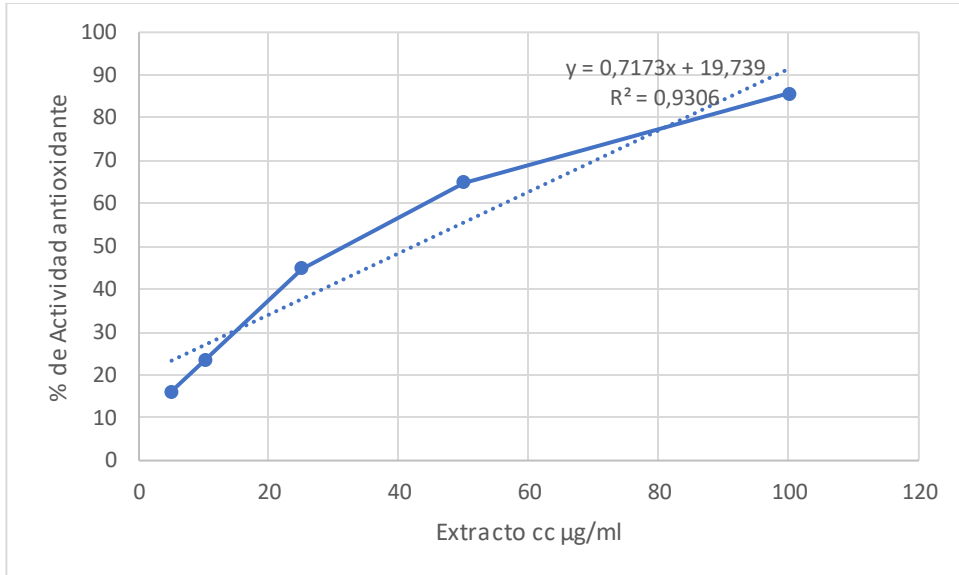


Figura 2. Gráfica de dispersión para el extracto etanólico de *T. domingensis* y el % de actividad antioxidante.

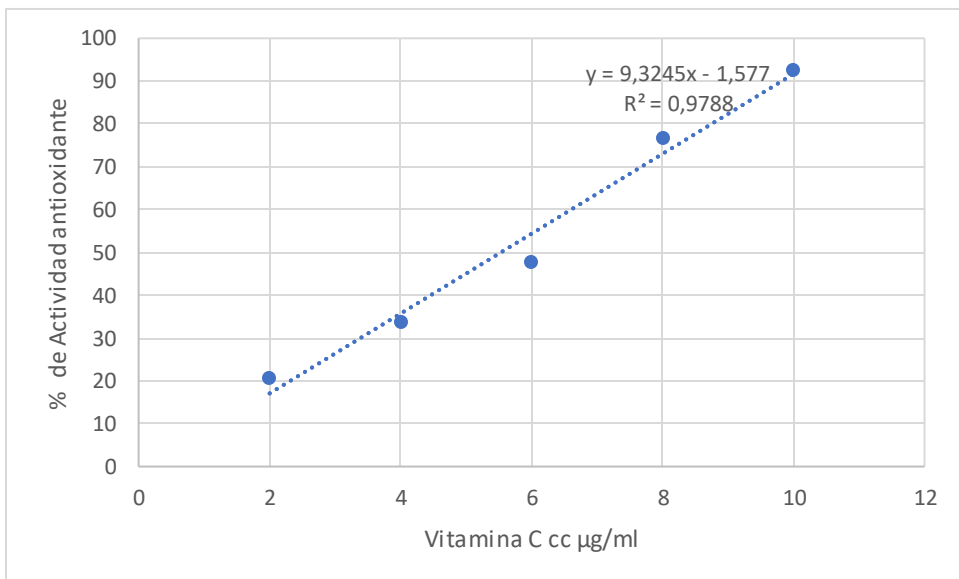


Figura 3. Gráfica de dispersión entre la vitamina C y el porcentaje de actividad antioxidante

En la Figura 3 también se presenta una gráfica de dispersión, ahora entre la variable vitamina C y el porcentaje de actividad antioxidante. Los resultados son:

- Correlación positiva.
- Con un coeficiente de determinación:  $R^2 = 0,9788$
- Ecuación de regresión lineal:  $y = 9,3245x - 1,577$
- $IC_{50}$  igual a  $5,5 \mu\text{g/ml}$ .

### 4.3. Estudio farmacológico

En la Tabla 7 se presenta los valores como la media de la inflamación en mililitros al evaluar la pata trasera en cada grupo de experimentación. Se encuentran algunos datos que son significativos respecto al control (diferencia de medias) a nivel de 0,05. A continuación, en la Tabla 8 se presentan los valores como el porcentaje de inflamación durante el proceso de prueba. Se tienen los siguientes resultados:

El grupo control, (solo recibió carragenina) muestra un mayor volumen de inflamación a diferencia del resto que recibieron tratamiento (naproxeno y extracto).

El tratamiento con naproxeno produjo en mayor efecto antiinflamatorio comparado al extracto etanólico de *T. domingensis*. De los extractos, la administrada en dosis 600 mg/kg fue la que ejerció un mayor efecto según se evidencia en las siguientes tablas y figuras.

**Tabla 7.** Evolución de la inflamación.

TRATAMIENTO	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Carragenina	1,36	1,71	2,15	2,50	2,45	2,22	2,01
Naproxeno	1,28	1,37*	1,40*	1,49*	1,58*	1,48*	1,42*
Tatora 150 mg/kg	1,29	1,68	1,97	1,94*	1,81*	1,57*	1,47*
Tatora 300 mg/kg	1,44	1,56	1,94	2,06*	1,86*	1,82*	1,75*
Tatora 600 mg/kg	1,44	1,62	1,85	1,76*	1,78*	1,83*	1,78

\*Existe diferencia significativa entre las medias con respecto al grupo control empleando un ANOVA con pruebas *post hoc* T de Dunnett (< control)

Fuente: elaboración propia.

Tabla 8. Evolución del edema en porcentaje

TRATAMIENTO	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Control	0%	25%	58%	83%	80%	63%	47%
Naproxeno	0%	7%	10%	16%	24%	15%	11%
Totora 150 mg/kg	0%	30%	53%	51%	40%	22%	14%
Totora 300 mg/kg	0%	9%	35%	43%	30%	27%	22%
Totora 600 mg/kg	0%	12%	28%	22%	24%	27%	23%

En la siguiente grafica lineal (Figura 4) se observa con mayor detalle la evolución de edema en cada grupo de estudio. Claramente el grupo control desarrolló un mayor volumen de edema, de igual manera es muy evidente que el grupo estándar (naproxeno) un menor volumen.

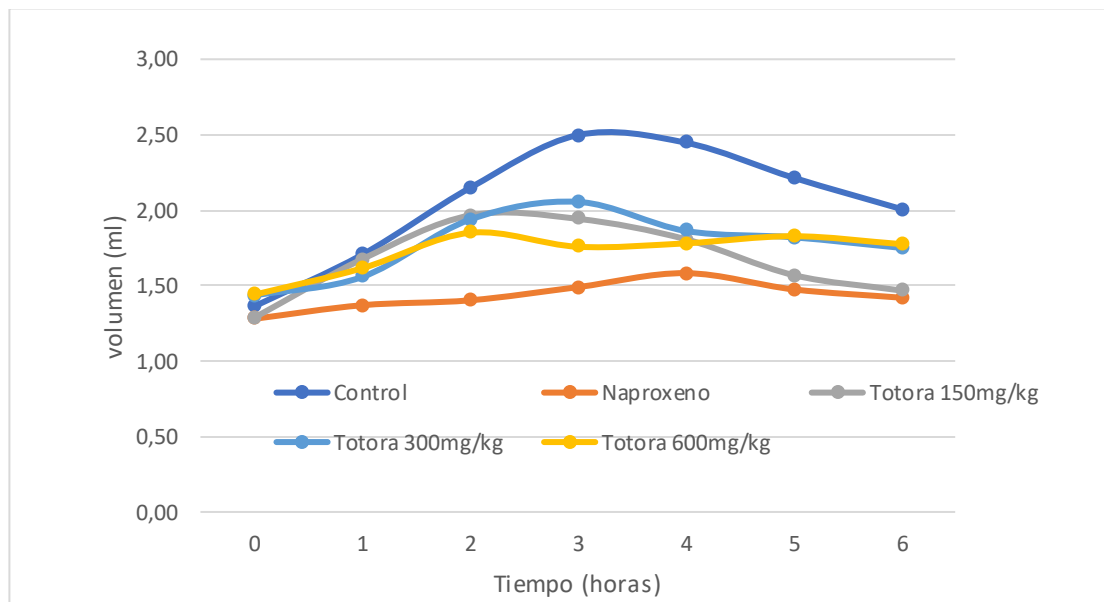


Figura 4. evolución del edema respecto a los distintos tratamientos en cada grupo de experimentación.

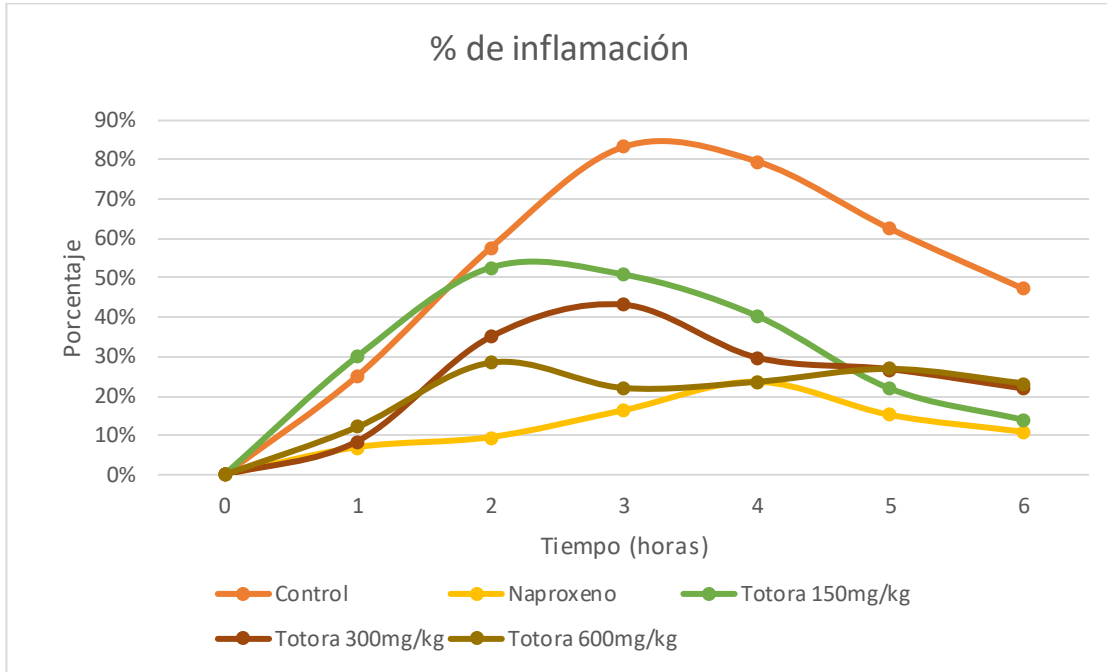


Figura 5. Evolución del edema en porcentaje

#### 4.4. Discusión

Según el estudio fitoquímico realizado, la especie vegetal *T. domingensis* Persoon “totora” presenta esteroides y triterpenos, leucoantocianidinas, flavonoides, taninos y saponinas. Existe evidencia científica de la presencia de metabolitos secundarios tipo flavonoides presentes en la especie vegetal *Typha domingensis* y en plantas de la misma familia. Por ejemplo, De Oliveira *et al.*, también determinan esos tipos de metabolitos en el extracto etanólico de las hojas de la planta problema (3), por su parte Lobo *et al.*, lo determinan en el rizoma (31).

De la Tabla 6, en la que se muestra los resultados de la actividad inhibitoria del radical libre DPPH de la muestra problema y el patrón de comparación vitamina C en relación a sus concentraciones se observa, que el IC<sub>50</sub> de cada uno es 42,18 y 5,5 µg/ml respectivamente. La muestra problema tiene un % AAO de 85,78 a una concentración de 100 µg/ml, esta actividad de *T. domingensis* Persoon podría explicarse gracias a sus metabolitos presentes, entre ellos, flavonoides, taninos y saponinas. En un estudio anterior, del extracto etanólico de *Typha angustifolia* Chen *et al.*, obtienen un IC<sub>50</sub> de 39,51 µg/ml al evaluar la actividad inhibitoria del mismo radical libre (13). Podemos decir que ambas especies tienen valores cercanos de su actividad antioxidante.

De la Tabla 7, en la que se presenta la evolución de la inflamación según el método de edema plantar inducido por carragenina se tuvo como resultado que el grado máximo de edema se alcanzó aproximadamente después de tres horas. Es necesario recordar la segunda fase del edema producto de esta sustancia esta mediada por prostaglandina,

bradicinina, proteasa y lisosoma, luego, su efecto máximo se alcanza en el rango de tiempo que se obtuvo en el presente experimento.

El grupo control desarrolló edema de mayor volumen, esto debido a que no se le administró ningún tratamiento antiinflamatorio. El fármaco estándar naproxeno ejerció un mayor efecto, esto posiblemente por su mecanismo de acción contra las síntesis de prostaglandinas al inhibir las ciclooxigenasas. El extracto administrado en mayor concentración (600 mg/kg) fue el que mostró mejor efecto, sin embargo, las tres dosis (también de 150 y 300 mg/kg) ejercieron efectos significativos ( $p < 0.05$ ) respecto al control a partir de la tercera hora en adelante. El efecto antiinflamatorio de la planta problema, puede ser gracias a sus metabolitos secundarios, entre ellos los flavonoides, saponinas (32,24). Según literaturas consultadas esas sustancias producen dicho efecto por inhibición del metabolismo del ácido araquidónico (25,27,29). En un estudio a otra especie vegetal (*Typha angustata*) que pertenece a la misma familia que nuestra planta problema, Pawar *et al* (33), concluyeron que la inflorescencia de esa especie vegetal presenta actividad antiinflamatoria significativa.

## CONCLUSIONES

1. Según el estudio fitoquímico realizado, el extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* Persoon “tatora” presenta esteroides, triterpenos, leucoantocianidinas, flavonoides y saponinas.
2. El extracto etanólico de las hojas de *T. domingensis* Persoon presenta actividad antioxidante según el método DPPH con un  $IC_{50}$  42,18  $\mu$ g/ml.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon presenta actividad antiinflamatoria según el método de edema plantar inducido por carragenina con un mejor efecto antiinflamatorio a dosis de 600 mg/kg en ratas albinas machos de 2 meses de edad.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios referentes a la toxicidad del extracto etanólico de *Typha domingensis* “tatora”.
2. Realizar estudios de extractos obtenidos con solventes distintos al etanol.
3. Realizar estudios de actividad antioxidantes según métodos *in vivo*.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Patología estructural y funcional. Robbins y Cotran. 8th ed. Barcelona: Elsevier; 2010.
2. Konigsbern Fainstein. Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas México: El Manual Moderno.; 2008.
3. De Oliveira C, Arikava Ferreira J, Do Amaral Toma M. Análise fotoquímica preliminar do extracto etanólico obtido a partir do rizoma da *Typha domingensis* Pers. Revista Ceciliana Dez. 2010 Diciembre; 2(2): p. 17-19.
4. Instituto Nacional de Salud. Medicina Tradicional. [Online].; s.f. [cited 2019 Mayo 2]. Available from: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional>.
5. Instituto Nacional de Salud. Plantas Medicinales. [Online].; s.f. [cited 2019 mayo 23]. Available from: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales>.
6. Santibáñez Acosta, Cabrera Meléndez. Catalogo florístico. [Online].; 2013 [cited 2019 mayo 27]. Available from: [https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo\\_floristico\\_plantas\\_medicinales.pdf](https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf).
7. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev. Invest Med Sur Mex. 2013; 20(3): p. 161-168.
8. Grossman S. Inflamación, reparación tisular y cicatrización de heridas. In Grossman S, Mattson Porth C. Fisiopatología: Alteraciones de la salud. Conceptos

- básicos. 9th ed. Barcelona: Wolters Kluwer-Lippincottm Williams & Wilkins; 2014. p. 306-379.
9. Chai T, Mohan M, Ong H, Wong F. Antioxidant, Iron-chelating and Anti-glucosidase Activities of *Typha domingensis* Pers (Typhaceae). TROP J PHARM RES. 2014 febrero; 13(1): p. 67-72.
  10. Akkol EK, Süntar I, Keles H, Yesilada E. The potential role of female flowers inflorescence of *Typha domingensis* Pers. in wound management. JE. 2011 febrero; 133(3): p. 1027-1932.
  11. Vasconcelos F, Teixeira M, Barbosa-Filho M, Agra, Nunes X, Giulietti, et al. Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. EJP. 2009 mayo; 609(1-3): p. 126-131.
  12. Eduardo Pareja DC. Evaluación de la eficiencia de la remoción de nutrientes del efluente de la PTAR de la empresa Esmeralda CORP S.A.C. mediante el uso de humedales artificiales, empleando la especie *Typha domingensis* Pers. (Totora). [Tesis de optar el Título de Ingeniero Ambiental]. Lima: Universidad Científica del Sur; 2015.
  13. Chen P, Cao Y, Bao B, Zhang L, Ding Anwei. Antioxidant capacity of *Typha angustifolia* extracts and two active flavonoids. Pharm. Biol. 2017 February; 55(1): p. 1283-1288.
  14. Vibrans H, Mondragón J. Malezas de México. [Online].; 2009 [cited 2019 junio 6. Available from: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/typhaceae/typha-domingensis/fichas/ficha.htm>.
  15. Kuklinski K. Farmacognosia Barcelona: Omega; 2000.

16. Lock O. R. Investigación fitoquímica. 3rd ed. Lima: PUCP; 2016.
17. Cano A, Arnao M. Actividad antioxidante, hidrofílica y lipofílica y contenidos de vitamina C de zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas. CYTA -Journal of Food. 2003 october; 4(3): p. 185-189.
18. Martínez Montes F, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas. Bioquímica de Laguna y Piña. In Fainstein MK. Radicales libres y estrés oxidativo. Ciudad de México: El manual moderno; 2018. p. 860-893.
19. Castillo P, Ramos B. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico y del extracto acuoso de las hojas de *Carya illinoensis* (pecana). Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; 2018.
20. Herrera Calderón O. Efecto antioxidante y antitumoral in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. "lucraco" en línea celular de cáncer de próstata DU-145. [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
21. Winter C, Risley E, Nuss G. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc Soc Exp Biol Med. 1962 December; 111(3): p. 544-547.
22. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. J Pharmacobiodyn. 1981 August; 4(8): p. 565-575.
23. Gómez Estrada H, González Ruiz K, Domingo Medina J. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet]. 2011; 3(10): p. 188-217.

24. Martínez HLD. Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de *Argemone mexicana* “Cardo santo”. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] ed. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
25. Camacho Silva M, Honorio Urbina. Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de *Dalea isidori* Barneby “Yerbechil”. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2017.
26. Porchezian E, Ansari SH, Ahmad. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Alangium salvifolium*. Pharm. Biol. 2001 setiembre; 39(1): p. 65-66.
27. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. An Fac med. 2011; 72(4): p. 231-237.
28. Hernández-Sampieri R, Mendoza Torres CP. Metodología de la investigación. 2nd ed. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2019.
29. Nuñez Enero WJ, Quispe Tapara R. Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* "tara". [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2015.
30. Fuentes Paredes FdM, Mendoza Yanavilca R, Rosales Fernández A, Cisneros Tarmeño R. Instituto Nacional de Salud. [Online].; 2008 [cited 2019 Mayo 25].

Available

from:

[http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA\\_ANIMALES\\_RATON.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf).

31. Lobo MA, Toma W, De Oliveira Silva MP, Sayuri Yamamoto N, Lopes Guimarães L. Avaliação da atividade antifúngica in vitro de frações semi-purificadas obtidas a partir do rizoma *Typha domingensis* pers (typhaceae). UNISANTA BioScience. 2013; 2: p. 42-51.
32. García Bacallao, Rojo Domínguez MD, García Gómez V, Hernández Ángel M. Plantas con propiedades antiinflamatorias. Scielo. 2002 Setiembre; 3(21).
33. Pawar CR, Kolhe VN, Khedhar PA. Anti-inflammatory activity of *Typha angustata* (Typhaceae). IJRAP. 2011; 2: p. 1598-1600.
34. Mellado Delgado G. Determinación de la eficiencia de tres especies macrófitas para el tratamiento de las aguas residuales domésticas. [Tesis para optar el Título de Ingeniero Ambiental]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2019.
35. Chai TT, Chiam MJ, Lau CH, Mohd Ismail N, Ong HC, Abd Manan F, et al. Alpha-Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Activity of Solvent Extracts and Fractions of *Typha domingensis* (Typhaceae) Fruit. TJPR. 2015 November; 11(14): p. 1983-1990.
36. Ferrándiz M, Nair A, Alcaraz M. Inhibición del metabolismo del araquidonato plaquetario de oveja por flavonoides de hierbas medicinales españolas e indias. Europe PMC. 1990 Febrero; 3(45).

## ANEXOS

### Anexo N°1.

**Tabla 9.** Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO GENERAL	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Typha domingensis</i> Persoon “tatora” a nivel preclínico	¿Tendrá actividad antioxidante y antiinflamatoria el extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i> “tatora” a nivel preclínico?	Determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i> “tatora” a nivel preclínico	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i> mediante una marcha fitoquímica.</li> <li>Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i>, según el método el DPPH,</li> <li>Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i> según el método de edema plantar inducido por carragenina.</li> </ul>	<p><b>General</b> El extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i> presenta actividad antiinflamatoria y antioxidante a nivel preclínico.</p> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>el extracto etanólico presenta metabolitos secundarios tipo flavonoides</li> <li>el extracto etanólico presenta actividad antioxidante</li> </ul>	<p><b>Independiente</b> extracto etanólico de las hojas de <i>T. domingensis</i>.</p> <p><b>Dependiente</b> Actividad antioxidante y antiinflamatoria.</p>	<p><b>Tipo de investigación</b> Experimental <b>Población:</b> Ratas Holtzman <b>Muestra:</b> 25 <b>Técnica de procesamiento de información:</b></p> <p>Recolección Secado, obtención del extracto etanólico, marcha fitoquímica, Método DPPH Método de edema plantar inducido por carragenina.</p>

## Anexo N°2 Constancia determinación botánica



*"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"*

### CONSTANCIA N°164-USM-2019

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

La muestra vegetal (tallo con hojas e inflorescencia), recibida de **Rubén Romero Moreyra**; estudiante de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Typha domingensis*** Persoon.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUB CLASE: COMMELINIDAE**

**ORDEN: TYPHALES**

**FAMILIA: TYPHACEAE**

**GENERO: *Typha***

**ESPECIE: *Typha domingensis* Persoon**

Nombre vulgar: "Totora"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre.

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

Lima, 22 de mayo de 2019

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

ACE/ddb

Anexo N°3 Certificado sanitario

	<b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO</b>
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">014-2020</span>	
Producto : Rata albina	Lote N° : R - 01 - 2020
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 45
Cepa : Holtzman	Edad : 1 mes ½
Peso : 120 a 160 g.	Sexo : macho
G.R. : 0038589	Destino : Romero Moreyra, Ruben
Fecha : 17 - 01 - 2020	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b> Coordinador de Bioterio, Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, cuarentena y control Sanitario para animales de experimentación.</p>	
Chorrillos, 17 de enero del 2020 (Fecha de atención y emisión del certificado)	
<b>NOTA:</b> El bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.	 ..... M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586

## Anexo N°4 Anova

		<b>ANOVA</b>				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
T1	Entre grupos	,369	4	,092	6,561	,002
	Dentro de grupos	,281	20	,014		
	Total	,650	24			
T2	Entre grupos	1,560	4	,390	7,515	,001
	Dentro de grupos	1,038	20	,052		
	Total	2,598	24			
T3	Entre grupos	2,793	4	,698	10,024	,000
	Dentro de grupos	1,393	20	,070		
	Total	4,187	24			
T4	Entre grupos	2,117	4	,529	23,897	,000
	Dentro de grupos	,443	20	,022		
	Total	2,560	24			
T5	Entre grupos	1,686	4	,421	17,555	,000
	Dentro de grupos	,480	20	,024		
	Total	2,166	24			
T6	Entre grupos	1,185	4	,296	10,185	,000
	Dentro de grupos	,582	20	,029		
	Total	1,767	24			

## Anexo N°5. Prueba post hoc

Comparaciones múltiples						
T de Dunnett (<control) <sup>a</sup>						
Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
						Límite superior
T1	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-,34000*	,07500	,000	-,1672
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,02400	,07500	,681	,1488
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,14800	,07500	,092	,0248
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,08800	,07500	,311	,0848
T2	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-,74800*	,14408	,000	-,4160
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,18200	,14408	,277	,1500
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,21000	,14408	,212	,1220
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,30000	,14408	,076	,0320
T3	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-1,00600*	,16694	,000	-,6213
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,55800*	,16694	,006	-,1733
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,44000*	,16694	,026	-,0553
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,74000*	,16694	,000	-,3553
T4	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-,86400*	,09411	,000	-,6471
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,64000*	,09411	,000	-,4231
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,58400*	,09411	,000	-,3671
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,66400*	,09411	,000	-,4471
T5	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-,74600*	,09800	,000	-,5202
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,65600*	,09800	,000	-,4302
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,40600*	,09800	,001	-,1802
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,39400*	,09800	,001	-,1682
T6	Naproxeno 50 mg/kg	Control	-,59200*	,10786	,000	-,3434
	Extracto 150 mg/kg	Control	-,54200*	,10786	,000	-,2934
	Extracto 300 mg/kg	Control	-,26200*	,10786	,039	-,0134
	Extracto 600 mg/kg	Control	-,23000	,10786	,069	,0186

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

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

## Anexo N°6 Obtención y tratamiento de la muestra



Figura 7. Recolección de las hojas de *T. domingensis* Persoon.



Figura 6. Secado de la muestra al medio ambiente, sobre papel kraft



Figura 9. Secado de la muestra en estufa a 37 °C.



Figura 8. Molienda empleando un molino manual.



Figura 10. Maceración en etanol.

## Anexo N°7 Marcha fitoquímica



Figura 11. El tamizaje fitoquímico fue realizado en la Facultad de Farmacia y Bioquímica.



Figura 12. Extracto seco de *T. domingensis* Persoon.



Figura 13. Separación de principios activos en la pera de bromo.



Figura 14. Fracciones del extracto etanólico.

## Anexo N°8 Evaluación de la actividad antioxidante



Figura 16. Preparación de las disoluciones de la muestra problema con el DPPH.



Figura 15. Lectura en el espectrofotómetro.



Figura 17. Cambio de coloración debido a la reducción del radical libre DPPH.

## Anexo N°9 Evaluación de la actividad antiinflamatorio



Figura 19. Preparación de los animales de experimentación.



Figura 18. Administración del extracto etanólico.



Figura 20. Medición del volumen de inflamación en el pleτισmómetro.

## DECLARACIÓN JURADA

Yo, **Ruben Romero Moreyra** identificado con DNI N.º 47608836 con domicilio legal en calle: Los Incas 31.12 del distrito de Alto Larán, provincia de Chincha, departamento de Ica.

**DECLARO BAJO JURAMENTO**, que de la tesis titulada “Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” a nivel preclínico” es un proyecto original e inédito, de mi propiedad intelectual.

Ica, 15 de setiembre de 2020

Firma:



Apellidos y nombres:

Ruben Romero Moreyra

## DECLARACIÓN JURADA

**Mg. Patricia Castillo Romero**, docente Principal, del Departamento de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica; **Dr. Ernesto Torres Véliz**, docente Asociado del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. **DECLARAMOS BAJO JURAMENTO** como participantes en calidad de asesores de la Tesis titulado “Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “tatora” a nivel preclínico” es un trabajo original e inédito, propiedad intelectual del Bach. Ruben Romero Moreyra.

Ica. 15 setiembre de 2020

Firma:



Apellidos y nombres:

Castillo Romero Patricia

Firma:



Apellidos y nombres:

Torres Véliz Ernesto

## CONSTANCIA

**Mg. Patricia Castillo Romero**, docente Principal, del Departamento de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica; **Dr. Ernesto Torres Véliz**, docente Asociado del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Asesores de la Tesis titulada:

Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Typha domingensis* Persoon “totora” a nivel preclínico.

Investigación que fue desarrollada por el Bachiller: Ruben Romero Moreyra.

**HACEMOS CONSTAR** que hemos revidado la Tesis, considerándolo apto para ser presentado ante la Comisión de Grados y Títulos para su revisión y aprobación.

Ica, 15 de setiembre de 2020



Firma:

---

Apellidos y nombres:

Castillo Romero Patricia



Firma:

---

Apellidos y nombres:

Torres Véliz Ernesto