



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Reporte de Servicio Social

NOMBRE DEL PROYECTO ESPECÍFICO:

Actividad Antiinflamatoria de *Senecio salignus*

PROYECTO GENÉRICO CORRESPONDIENTE:

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos

DRA. PEREZ GUTIERREZ MA. SALUD

Asesora

DIANA KARINA JIMÉNEZ DESIÓN

Alumna

207231329

Matricula



Contenido

Introducción	3
Marco teórico	4
• Inflamación	4
Justificación	7
Objetivo	8
Material y Métodos	8
Resultados	10
Discusión	14
Conclusión	15
Lista de referencias	15
Resumen	19
Discusión	22
Conclusión	23
Lista de referencias	23



Actividad Antiinflamatoria de *Senecio salignus*

Introducción

La inflamación es la respuesta funcional del organismo, la cual se activa frente a una agresión¹, generando cambios celulares los cuales se traducen en la liberación o activación de mediadores químicos que conducen a cambios en la microcirculación y el tejido conectivo². El tratamiento que se indica son los medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINEs)³ y medicamentos antiinflamatorios esteroides⁴. Que han demostrado ser eficaces pero que tienen efectos adversos, tales como problemas gastrointestinales, como ulceración gástrico duodenal potencialmente mortal⁵, sangrado y perforaciones⁶. La exploración endoscópica alta muestra una prevalencia del 15 % - 30 % de úlceras en el estómago o el duodeno, hipertensión arterial, problemas renales y problemas cardíacos de los pacientes que toman regularmente AINEs⁷. En cuanto a los efectos secundarios de los medicamentos esteroides van desde el aumento de peso, el aumento de la presión arterial hasta la disminución de la densidad de los huesos (osteoporosis)⁸. Por esta razón se buscan nuevos compuestos con actividad antiinflamatoria que tengan menos efectos secundarios y una fuente importante son las plantas y una de ellas es *Senecio salignus* que se utiliza en forma de enjuague bucal⁹, así como para tratar dolor, golpes o cólico, se aplica como cataplasma o macerado, además se emplea contra el dolor de cintura, pies y reumas, o bien como tintura o té para tratar el dolor de corazón¹⁰. En la presente investigación se determinó la actividad antiinflamatoria de esta especie en el edema auricular en ratón inducido por 13-Acetato de-12-O-tetradecanoilforbol (TPA) de forma aguda y de múltiples aplicaciones, también se probó su efecto en el edema plantar en ratas inducido por carragenina.



Marco teórico

- Inflamación

Frente a una agresión al organismo se produce una respuesta natural inflamatoria, la cual consiste en una reacción local del tejido lesionado, dando lugar a una lesión tisular en el que participa el Sistema Nervioso (Neurotransmisores), el Sistema Inmune (Citocinas) y el Sistema Endocrino (hormonas). Estas reacciones de reparación ante la agresión pueden ser perjudiciales.

Las causas que pueden producir una lesión en el organismo pueden ser:

Microorganismos: Este tipo de lesión es generada por una infección.

Agentes físicos: Traumatismo

 Térmicos: Frio o calor

 Radiaciones: Rx, luz, infrarrojo, ultravioleta

Agentes químicos: Exógenos

 Endógenos alterados

Agentes endógenos: Procesos inmunes

 Alteraciones genéticas

 Necrosis tisular

La inflamación se lleva a cabo en diversas etapas de forma casi simultánea: en la primer etapa se presenta un rubor debido a la vasodilatación y estasis vascular, en la etapa en la que se forma el tumor (hinchazón) es debido a que se forma un exudado inflamatorio y puede estar acompañado de sangre, la siguiente etapa consiste en la sensación de calor en donde la vasodilatación juega un papel importante de igual forma la activación del metabolismo del ácido araquidónico en el que se producen prostaglandina, en las últimas etapas se presenta el dolor en el que la irritación de fibras nerviosas por el agente etiológico y sustancias químicas. En algunos casos la inflamación incapacita al órgano alterado de cumplir su función.

Ya que la respuesta natural inflamatoria es un proceso de eliminación del agente causal, dando como respuesta la reabsorción del exudado y regeneración de tejidos destruidos, sin embargo, esta respuesta para reparar la lesión: puede generar cicatriz anómala por la lesión en el tejido dañado, que no se regenere el tejido adecuadamente y la formar calcificaciones. En algunos casos la inflamación crónica forma la proliferación celular generando abscesos y granulomas, lo que conlleva a complicaciones como el trastorno autoinmune, degeneración maligna y amiloidosis.



- Antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroidales son algunos de los compuestos que se utilizan para tratar la inflamación, al igual que los analgésicos esteroideos como: glucocorticoides y bloqueadores de mediadores.

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroidales tradicionales empleados son el Ácido acetilsalicílico, Naproxeno, Ibuprofeno y Celecoxib.

Clasificación Antiinflamatorios no Esteroides	
No selectivos (COX-1 y 2) (tradicionales, convencionales)	Selectivos (COX-2) (COXIB's)
Ácido acetilsalicílico	Celecoxib
Indometacina	
Ibuprofeno	
Naproxeno	
Diclofenaco	

- Ácido acetilsalicílico es un inhibidor de la enzima ciclooxigenasa 1 (COX-1) y, por lo tanto, inhiben la síntesis del tromboxano A_2 (TXA₂). El Ácido acetilsalicílico consigue una inactivación por acetilación casi completa ($\geq 97\%$) y persistente ($\geq 24h$) de la COX plaquetaria (isoforma COX-1). Las plaquetas son células anucleadas y, por lo tanto, incapaces de llevar a cabo la síntesis proteica, no pueden reponer la actividad enzimática, por lo que la inhibición plaquetaria se prolonga durante toda la vida de la plaqueta (7–9 días). Por medio de la acetilación, el ácido acetilsalicílico es de elección como antiagregante, en dosis bajas. Los salicilatos poseen acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria, pueden producir trastornos gastrointestinales y nefritis.
- Naproxeno e Ibuprofeno son derivados del ácido propionico que poseen efectos analgésicos similares a la del ácido acetilsalicílico, aunque sus efectos antiinflamatorios y antipiréticos son inferiores.
- Diclofenaco sódico inhibe la biosíntesis de prostaglandinas, genera lesión de la mucosa gastrointestinal, insuficiencia renal severa e insuficiencia hepática de leve a moderada.



- Ibuprofeno derivado del ácido acético Este grupo es semejante en sus acciones a las pirazonas, los agentes pueden producir toxicidad renal, hematológica y reacciones de hipersensibilidad.
- La indometacina junto con el piroxicam se une e inhibe preferentemente a COX1, pudiendo producir efectos adversos renales, gastrointestinales con mayor frecuencia e inhiben la agregación plaquetaria.
- Celecoxib es uno de los medicamentos más recientes el cual es un inhibidor selectivo de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), con propiedades antiinflamatorias similares a las de otros fármacos antiinflamatorios no esteroideos como el naproxeno el diclofenaco. El riesgo de producir efectos adversos a nivel gastrointestinal es menor que con los AINE's convencionales. Sin embargo, el celecoxib puede producir hemorragias gastrointestinales, úlceras y perforaciones.

Al analizar este panorama se requiere de generar alternativas para tratar la inflamación.

- **Medicamentos antiinflamatorios esteroidales**

Los corticosteroides, incluidos la cortisona, la hidrocortisona y la prednisona, son útiles para tratar muchas afecciones, como erupciones cutáneas como eczema, enfermedades autoinmunes como lupus, esclerosis múltiple, algunos tipos de cáncer y asma. Otro grupo se llama mineralocorticoides. Este es el tipo que generalmente se usa para reemplazar los esteroides que el cuerpo no produce, y el más común es la fludrocortisona. Estos medicamentos también conllevan un riesgo de efectos secundarios graves cuando son administrados en grandes dosis y por largos periodos de tiempo ⁸.

Estos son algunos de los efectos secundarios:

- La densidad de los huesos disminuye (osteoporosis)
- Presión alta
- Menos sangre a los huesos, causando dolores en los huesos
- Aumento de presión en el ojo (Glaucoma)
- Visión borrosa en uno o en los dos ojos (Cataratas)
- Aumento de peso
- Aumento de apetito
- Aumento de vello en el cuerpo y acné
- Piel más propensa a morados



- Piel menos densa y heridas que no cicatrizan
- Puede que los niños no crezcan normalmente
- Los músculos débiles y doloridos
- Perdida de períodos menstruales
- Aumento de azúcar en la sangre (diabetes)
- Irritación en el estómago (úlceras)
- Algunas personas tienen cambios emocionales como irritabilidad, depresión y pesadillas.
- Problemas con infecciones virales simples, como la varicela.

- *Senecio Salignus*

Senecio Salignus es un arbusto muy ramificado y algo frondoso, de hojas casi sésiles, muy angostas (hasta 1.5 cm de ancho) y puntiagudas, inflorescencias densas de numerosas cabezuelas, éstas con 5 o 6 flores liguladas de color amarillo brillante^{11 y 12}, se tienen referencias del centro del país, en los estados de México, Morelos, Hidalgo, Puebla y Veracruz¹³, en el que *Senecio Salignus* es utilizada para el tratamiento de gripe y dolor de garganta, aunque también es utilizada para calenturas y dolor de huesos y también se ha utilizado desde épocas remotas en los altos de Chiapas¹⁴ para evitar las plagas en frijol almacenado^{15 y 16}, asimismo, se pueden emplear las ramas de este arbusto en cataplasma cuando hay dolor o cólico, para aliviar el dolor de espalda hay que lavarse con la hoja fresca, además se recomienda contra el dolor de cintura, pies o reumas; se utilizan las ramas asadas con o sin alcohol; o bien, las hojas machacadas o fermentadas en alcohol o tequila para tratar estos padecimientos, para tratar el dolor de corazón se acostumbra ingerir un té.

Justificación

Los tratamientos a los que se recurren en los procesos inflamatorios son los antiinflamatorios no esteroides y los antiinflamatorios esteroides, los efectos colaterales asociados a estos, disminuyen de forma considerable en comparación al administrarlos por vía oral.

La asociación de los efectos colaterales a los que están relacionados los antiinflamatorios no esteroides y antiinflamatorios esteroides, se requiere evaluar alternativas de tratamientos, ya que el *Senecio salignus* ha sido utilizado en las comunidades en el tratamiento de procesos inflamatorios como la inflamación de encías, dolor e inflamación de las articulaciones, tratar golpes, etc. De acuerdo a lo que se pone de manifiesto en el uso de *Senecio salignus* en las comunidades queda la necesidad de validar su acción farmacológica.



Objetivo

General:

- Evaluar el efecto antiinflamatorio de diferentes extractos de *Senecio salignus* en modelos animales

Específica:

- Obtención de los extractos clorofórmico y metanólico de *Senecio salignus*
- Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos clorofórmico y metanólico
- Purificación del extracto que presentó la mayor actividad antiinflamatoria

Material y Métodos

MATERIAL BOTÁNICO. Se utilizaron tallos y hojas de *Senecio salignus* Kunth (Compositae), recolectadas en los alrededores de Tenancingo en el Estado de México. La muestra recolectada fue secada a temperatura ambiente a la sombra, molida y almacenada en bolsas. La planta fue autenticada por la Dra. Abigail Aguilar Contreras y un espécimen se depositó en el herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM 15546).

Animales

Ratones macho CD-1 (20 a 25 g) y ratas Wistar hembras (100 – 320 g) que fueron proporcionados por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, los cuales se mantuvieron a una temperatura controlada con periodos de luz/oscuridad de 12 horas. A los animales se les proporcionó comida y agua *ad libitum*. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con el cuidado de los animales de laboratorio de la Guía para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio y la NOM-062-ZOO-1999

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.

La planta seca y molida se sometió a extracción con 3.5 L de Cloroformo o Metanol a temperatura de ebullición, se filtró y el disolvente se eliminó en un evaporador rotatorio a presión reducida.

FRACCIONAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE EXTRACTO.

El extracto clorofórmico se separó por cromatografía en columna, empacada con gel de sílice (Kieselgel 60, malla 70-230 ASTM), que se preparó utilizando hexano como *fase móvil* y luego se



umentó la polaridad gradualmente con acetato de etilo. Se obtuvieron fracciones de 100 ml y se compararon por cromatografía en capa fina, las fracciones con el mismo patrón cromatográfico fueron agrupadas. Las fracciones resultantes se probaron sobre el modelo de edema auricular en ratones inducida por TPA, y se determinó que fracción presentó la mayor actividad antiinflamatoria.

La cromatografía en capa fina se realizó en placas TLC Silica gel 60 F₂₆₄, se aplicó con tubos capilares sobre la placa de sílica gel ajustando a una distancia de 2.5 mm del borde de la placa y con una separación de 1 cm entre cada muestra, El desarrollo cromatográfico se realizó en una cámara agregando solvente de elución, como fase móvil Hexano – Acetato de etilo 95% - 5%, aumentando el 5 % hasta el 25 % de acetato de etílico y 50% - 50 %. Una vez que se logró el desarrollo de la placa, se extrajo de la cámara. La placa fue revelada con lámpara Uv (ultravioleta).

ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE *SENECIO SALIGNUS*.

EDEMA AURICULAR INDUCIDO POR 13-ACETATO DE 12-O-TETRADECANOILFORBOL (TPA) EN RATÓN.¹⁷

La actividad antiinflamatoria de los extractos metanólico y clorofórmico de *Senecio Salignus* se evaluó en ratones macho CD-1 (20 a 25 g). Se formaron 4 grupos de 8 ratones cada uno, se les aplicó tópicamente 2.5 µg de TPA en 25 µL de acetona en la superficie interna y externa de la oreja izquierda. Transcurridos 30 minutos después de la aplicación del TPA, se administró el tratamiento correspondiente para cada lote de prueba: grupo I indometacina (2 mg), grupo II extracto metanólico de *Senecio Salignus* (2mg), grupo III extracto clorofórmico de *Senecio Salignus* (2 mg), lote IV únicamente vehículo.

Después de 6 horas de la administración, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, se cortaron círculos de la región central de ambas orejas y se pesaron. La inflamación del grupo control se determinó como la diferencia del peso entre la oreja inflamada con TPA y la oreja no tratada. El edema fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Inhibido} = \frac{E_c - E_t}{E_c} \times 100$$

- E_c = Edema medio del grupo control,
- E_t = Edema del grupo tratado.



EDEMA AURICULAR EN RATONES INDUCIDA POR MÚLTIPLES APLICACIONES DE TPA. ¹⁷

Se formaron 4 grupos de 8 ratones cada uno, se les aplicó tópicamente 2.5 µg de TPA en 25 µL de acetona en la superficie interna y externa de la oreja izquierda. Transcurridos 30 minutos después de la aplicación del TPA, se administró el tratamiento correspondiente para cada lote de prueba: grupo I indometacina (2 mg), grupo II extracto metanólico de *S. Salignus* (2 mg), grupo III extracto clorofórmico de *S. Salignus* (2 mg), lote IV únicamente vehículo. A las 48 horas se aplicó nuevamente el tratamiento correspondiente a cada lote, hasta que se administraron los tratamientos 5 veces.

Después de 6 h de la última administración, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, se cortaron círculos de la región central de ambas orejas y se pesaron. La inflamación del grupo control se determinó como la diferencia del peso entre la oreja inflamada con TPA y la oreja no tratada.

EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA. ¹⁸

A 3 grupos de 8 ratas con previo ayuno de 12 horas, se les administró por vía oral el tratamiento correspondiente para cada lote de prueba: grupo I indometacina (10 mg/Kg), grupo II fracción a la que se le evaluó la actividad antiinflamatoria, grupo III únicamente vehículo. A la hora se administró carragenina al 1 % como inductor de inflamación suspendida en solución salina (0.1 mL) en la pata trasera derecha. La inflamación se cuantificó midiendo el volumen de las patas se utilizó un pletismómetro a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la inyección de carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del edema aplicando la fórmula:

$$\% \text{ Inhibido} = \frac{[100 - (\text{Diferencia T1} - \text{T0})]}{(\text{Diferencia T1} - \text{T0}) \text{ grupo control}} \times 100$$

OT0 = Volumen desplazado antes de la inyección de carragenina

OT1 = Volumen desplazado a diferentes tiempos

Resultados

En el modelo de edema auricular inducida por TPA en ratón, el extracto con mayor actividad antiinflamatoria fue el extracto Clorofórmico. (Tabla 1 y Figura 1)

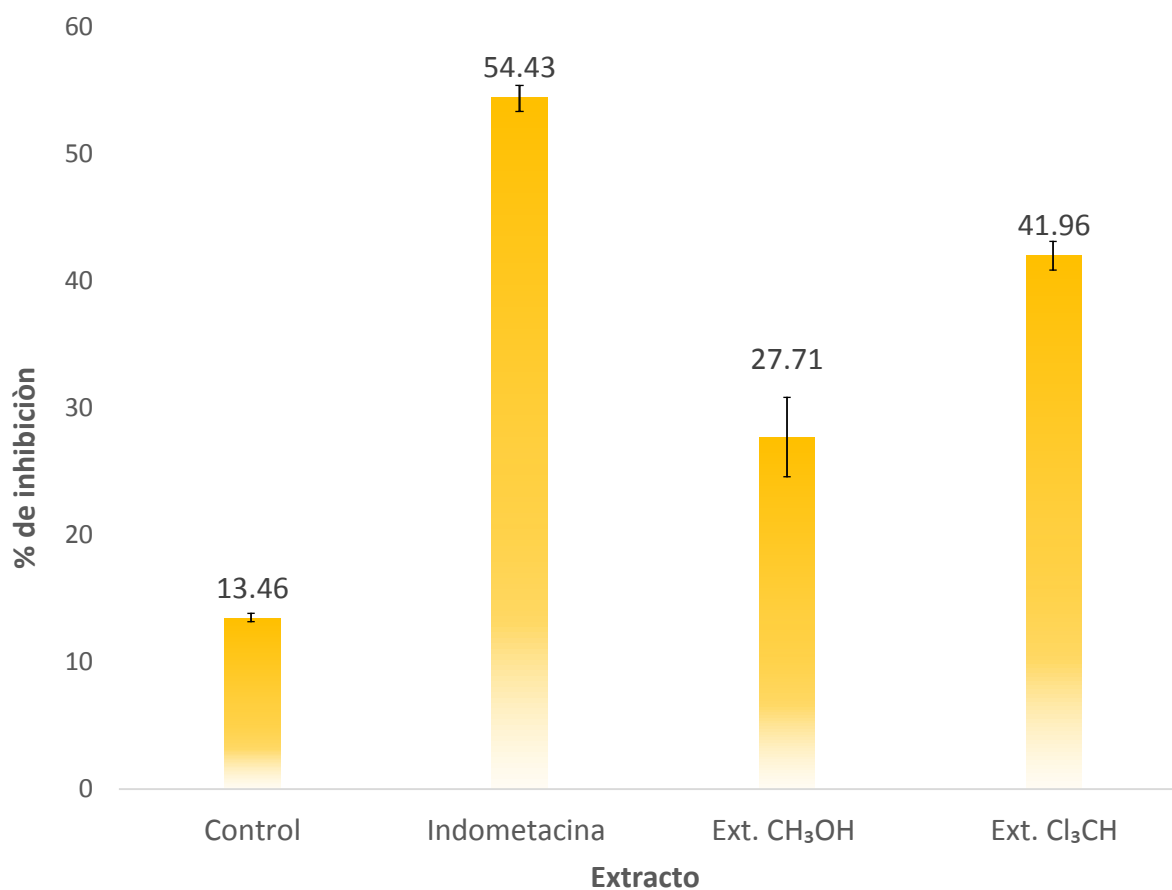


Tabla 1. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el de edema auricular inducida por TPA.

% de inhibición	Indometacina	Ext. Metanólico	Ext. Clorofórmico
	2 mg	2 mg	2 mg
	54.43 ± 1.06	27.71 ± 3.10	41.96 ± 1.11

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Clorofórmico. (n=8).

Figura 1. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el edema auricular inducido por TPA.



Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Clorofórmico. (n=8).



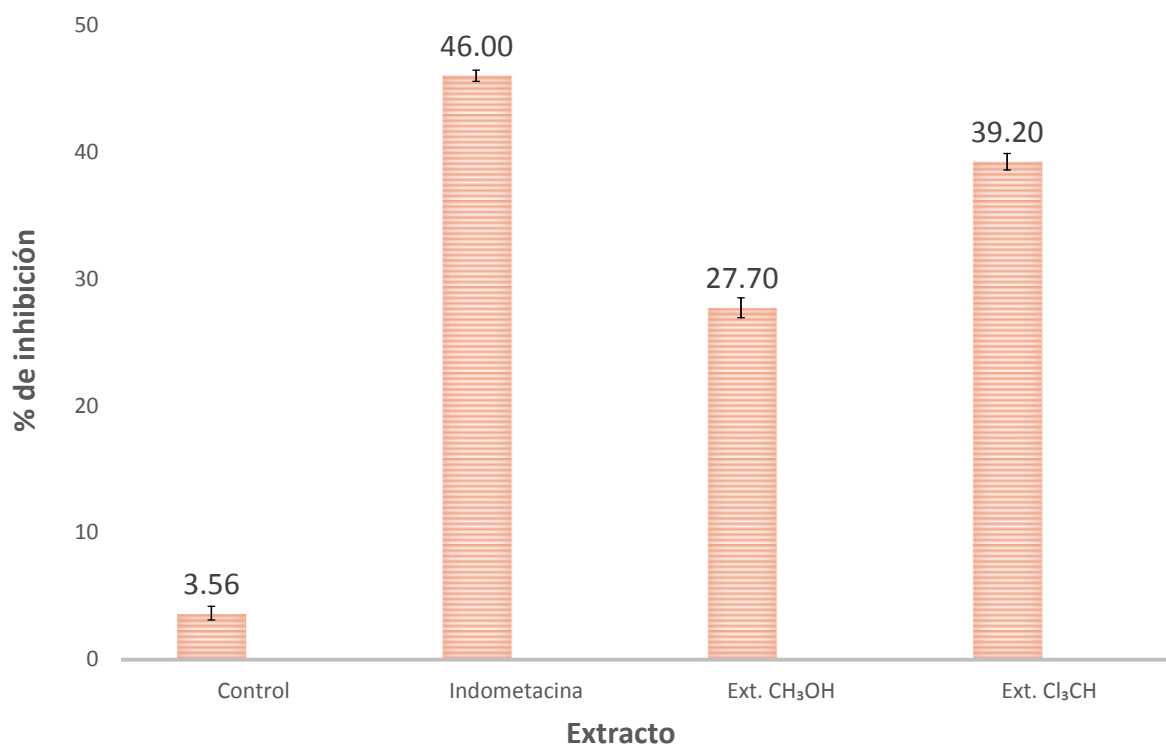
Al completar el periodo de 10 días en el modelo de edema auricular inducida por TPA con múltiples aplicaciones en ratón, el extracto con mayor actividad antiinflamatorio fue el extracto Clorofórmico. (Tabla 2 y Figura 2).

Tabla 2. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el edema auricular inducido por múltiples aplicaciones de TPA.

% de inhibición	Indometacina	Ext. Metanólico	Ext. Clorofórmico
	2 mg	2 mg	2 mg
	46.00 ± 0.45	27.70 ± 0.76	39.20 ± 0.65

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Clorofórmico. (n=8).

Figura 2. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el edema auricular inducido por múltiples aplicaciones de TPA en ratón.



Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Clorofórmico. (n=8).



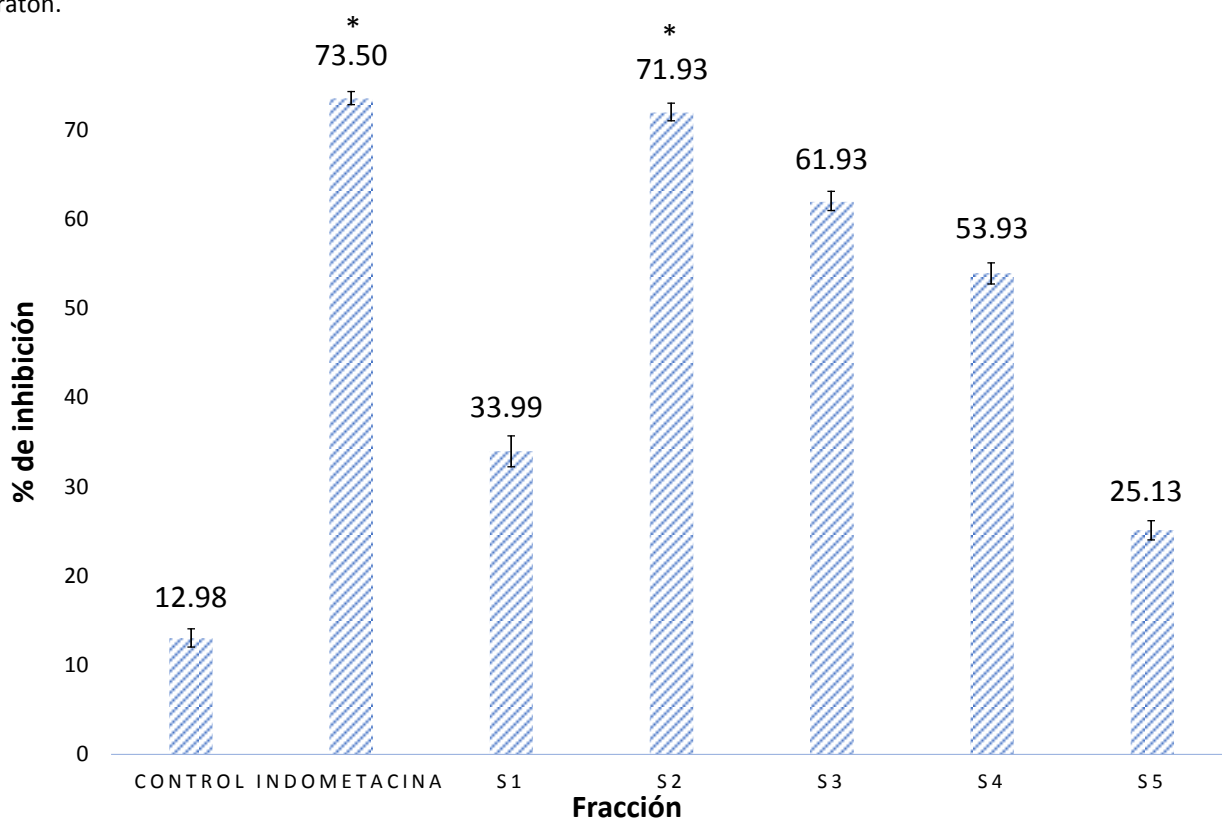
La purificación del extracto clorofórmico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna se obtuvieron cinco fracciones a las que se denominaron S1, S2, S3, S4 y S5, las fracciones S2 y S3 presentaron mayor actividad antiinflamatoria en el modelo de edema auricular en ratón inducido por TPA, cuyos resultados se muestran en la tabla 3 y figura 3.

Tabla 3. Actividad antiinflamatoria de las fracciones de *Senecio Salignus* obtenidas por cromatografía en columna en el edema auricular inducido por TPA.

% de inhibición	Indometacina	S1	S2	S3	S4	S5
	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	73.50 ± 0.74 *	33.99 ± 1.71	71.93 ± 0.96 *	61.93 ± 1.08	53.93 ± 1.18	25.13 ± 1.06

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs S1, S2, S3, S4 y S5. (n=8).

Figura 3. Actividad antiinflamatorio de las fracciones de *Senecio Salignus* en el edema auricular inducido por TPA en ratón.



Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs S1, S2, S3, S4 y S5. (n=8).



Las fracciones S2 y S3 fueron administrados a ratas con edema plantar inducido por carragenina. La fracción que mostró mayor porcentaje de inhibición fue S2 a dosis de 200 mg/kg después de 5 h de su administración. (Tabla 4)

Tabla 4. Actividad antiinflamatoria de las fracciones S2 y S3 de *Senecio Salignus* en el modelo edema plantar inducido por Carragenina en rata.

% de inhibición	Indometacina	Media de las fracciones (S2) de <i>Senecio salignus</i>			
	8 mg / kg	200 mg / kg	100 mg / kg	50 mg / kg	25 mg / kg
	73.5 ± 0.74	63.99 ± 1.71	57.3 ± 1.60	38.5 ± 1.80	31.2 ± 0.80

% de inhibición	Indometacina	Media de las fracciones (S3) de <i>Senecio salignus</i>			
	8 mg / kg	200 mg / kg	100 mg / kg	50 mg / kg	25 mg / kg
	73.5 ± 0.74 *	71.93 ± 0.96 *	60.10 ± 1.40	54.6 ± 1.60	35.9 ± 1.70

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs 200, 100, 50 25 mg / kg de S2 y S3. (n=8).

Discusión

La inflamación constituye un problema de salud importante que se presenta en el organismo como una respuesta frente a una agresión, agente ambiental o agente químico como lo es al inducir la inflamación por TPA el cual estimula la iniciación de la respuesta inflamatoria con el mecanismo de fosfolipasas y ciclooxigenasas, lo que produce la liberación de ácido araquidónico y prostaglandinas¹⁹.

En este trabajo se encontró que el extracto Clorofórmico y 2 de las fracciones obtenidas de *Senecio Salignus*, tenía actividad antiinflamatoria en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones de forma aguda y crónica, así como en el modelo de edema plantar en ratas inducido por carragenina.

Las fracciones denominadas S2 y S3 clorofórmico estas dos fracciones se consideran como las responsables de la actividad antiinflamatorio de *Senecio Salignus* en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones, se comprueba esta actividad de las fracciones S2 y S3 en el modelo de edema plantar a dosis de 200 mg /kg en ratas. La fracción S2 mostró una buena actividad, lo que sugiere que al menos uno de los compuestos presentes de *Senecio salignus* puede inhibir el proceso inflamatorio, lo que produce el efecto observado^{20 y 21}.



Los resultados de este estudio validan el uso de *Senecio Salugnus* en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Estos resultados son prometedores e invitan a continuar estudios sobre estas fracciones a fin de aislar sus compuestos activos y evaluarlos en otros modelos de inflamación tanto agudos como crónicos, así como de determinar los posibles mecanismos implicados en el efecto farmacológico mediante su evaluación frente a mediadores específicos del proceso inflamatorio como las prostaglandinas, el óxido nítrico, la mieloperoxidasa y el factor de necrosis tumoral, además de examinar su capacidad de actuar como captadoras de radicales libres²².

Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el extracto clorofórmico tiene actividad antiinflamatoria, también valida su uso en la medicina popular. Este extracto podría ser promisorio para el desarrollo de un fitomedicamento para el tratamiento de la inflamación. Se requieren estudios posteriores para aislar e identificar los compuestos responsables de la actividad y también para investigar el mecanismo involucrado en el efecto antiinflamatorio observado.

Lista de referencias

1. García P., 2008, Inflamación, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 102 (1), 99-159.
2. Cervantes R. D., Cervantes A. R., Presno J. M., 2014, Mecanismos de señalización involucrados en la resolución de la inflamación, Gaceta Médica de México, 150 (9), 440-449.
3. Covarrubias A., Guevara U., 2006, ¿Qué son las clínicas del dolor?, México, Revista mexicana de anestesiología, 7, 1-7.
4. Gupta A., Gupta Y., 2013, Glucocorticoid-induced myopathy: Pathophysiology, diagnosis, and treatment, Indian Journal of Endocrinology Metabolism, 17(5), 913-6.
5. Peoples J. B., 1985, Peptic ulcer disease and the monosteroidal anti-inflammatory drugs, The American Surgeon, 51 (6), 358-362.



6. Collins A. J, Davies J. y Dixon A. S., 1988, A prospective endoscopic study of the effect of orudisand oruvail on the opper gastrointestinal tract in patients with osteoarthritis, *Journal of Rheumatology*, 27 (2), 106-109.
7. Paulus H. E., 1985, FDA arth utis adrison y committee meeting in survillance ofnosteroidal anti inflamatory drugs, *Arthritis Rheum*, 28 (10), 1168-1169.
8. Webb NJA., Woolley RL., Lambe T., Frew E., Brettell EA., Barsoum EN., Trompeter RS., Cummins C., Deeks J. J., Wheatley K. e Ives NJ., 2019, Long term tapering versus standard prednisolone treatment for first episode of childhood nephrotic syndrome: phase III randomised controlled trial and economic evaluation, *BMJ Publishing Group Limited*, 365, l1800.
9. Dr. Waizei B., J., Dr. Martínez R., M., I., 2011, Algunas plantas usadas en México en padecimientos periodontales, *Revista ADM*, 68 (2), 73-88.
10. http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Barkleyanthus_salicifolius&id=7858, 06 Agosto 2014.
11. <http://conabio.inaturalist.org/taxa/204755-Senecio-salignus>, 22 Junio 2013.
12. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/seneciosalignus/fichas/ficha.htm>, 24 Junio 2013.
13. Rzedowski, G. C., 2010, *Flora Fanerogámica del Valle de México*, 6, 36, 607, 978, 7607.
14. Nash D. L y Williams L. O., 1976, *Flora of Guatemala*, Guatemala, Botany series, 24 (XII), 96-97.
15. Rodríguez C y López E., 2001, Actividad insecticida e insectistática de la chilca (*Senecio salignus*) sobre Zabrotes subfasciatus, *Manejo Integrado de Plagas*, 59, 19 – 26.
16. Rodríguez H. C., 1998, El chile como remedio casero contra insectos plaga, México, *Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21 y 22, 9-12.
17. L. M. de Young, J. B. Kheifets, S. J. Ballaron, y J.M. Young, 1989, Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents, *Agents and Actions*, 26, 3-4, 335–341.



18. C. A. Winter, E. A. Risley y C. W Nuss., 1962, Carrageenininduced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 111, 544–547.
19. Garrote A., Bonet R., 2017, Antiinflamatorios no esteroideos tópicos, España, *Farmacia abierta de la editorial Elsevier*, 31 (4), 13-15.
20. Batlouni M., 2010, Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales, Brasil, 94 (4), 538-546.
21. Vilalba H., 2014, Inflamación I, Actualización clínica, 43, 2261-2265.
22. Merskey H., 1986, Classification of chronic pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms, Washington, *Classification of chronic pain*, 3, 345-356.



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Reporte de Servicio Social

NOMBRE DEL PROYECTO ESPECÍFICO:

Actividad Antiinflamatoria de *Senecio salignus*

PROYECTO GENÉRICO CORRESPONDIENTE:

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos

DRA. PEREZ GUTIERREZ MA. SALUD

Asesora

DIANA KARINA JIMÉNEZ DESIÓN

Alumna

207231329

Matricula



Resumen

La investigación se orientó a comprobar la actividad antiinflamatorio de los extractos metanólico y clorofórmico de *Senecio salignus Kunth* (Compositae), atribuída por el uso en la medicina tradicional mexicana. Se trabajó con las partes aéreas (hojas y tallos) de la planta que se colectó en los alrededores de Tenancingo en el Estado de México.

La actividad farmacológica se realizó de acuerdo a el método de edema auricular inducido por 13-Acetato de-12-O-tetradecanoilforbol (TPA) en ratón, al igual que en edema auricular en ratones inducida por múltiples aplicaciones de 13-Acetato de-12-O-tetradecanoilforbol (TPA), evaluando la actividad antiinflamatoria de los extractos metanólico y clorofórmico a dosis de 2 mg/oreja, frente a un fármaco de actividad antiinflamatoria conocida como la es la indometacina, los cuales fueron empleados a una dosis de 2 mg/oreja. Ambos extractos poseen actividad antiinflamatoria, presentando mayor actividad el extracto Cloroformico el cual fue purificado por cromatografía en columna empacada con gel de sílice (Kieselgel 60, malla 70-230 ASTM).y aplicado por edema plantar en ratas por carragenina al 1%, evaluando la actividad antiinflamatoria de las fracciones purificadas a dosis de 300 mg / kg, frente a la sustancia de referencia utilizada en este caso indometacina la cual se administra a 10 mg / kg.

Marco teórico

La inflamación es el signo claro de una agresión que conlleva diversos mecanismos y cascadas de señalización para llevar a cabo el proceso de reparar la agresión ^[1], el organismo al llevar a cabo esta reparación puede dañar aún más la agresión, por lo que se requiere tratar con medicamentos antiinflamatorios no esteroides tradicionales son: el ácido acetilsalicílico, Naproxeno, Ibuprofeno y Celecoxib ^[2] y antiinflamatorios esteroides más empleados son: corticoides y mineralocorticoides ^[3], estos tratamientos conllevan un riesgo de efectos secundarios graves cuando son administrados en grandes dosis y por largos periodos de tiempo ^[4]. Esto tratamientos generan efectos secundarios que van desde irritación gastrointestinal hasta disminución de sangre, el cual causa dolores en los huesos.

Metodología

En la primera etapa se recolectó del espécimen (*Senecio salignus*), posteriormente se eliminó el contenido de agua, se extendió la planta para que se seque, una vez seca se realizó la molienda para obtener trozos entre 0.5 a 1.5 cm de largo y entre 0.2 a 0.3 cm de ancho.

En la siguiente etapa (Extracción discontinua con disolventes) fue una de las etapas más críticas ya que establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, lo cual garantiza la calidad, rendimiento, seguridad y eficiencia de los extractos. Uno de los parámetros críticos es el definir los solventes empleados, estos tuvieron que ser óptimos para lograr extraer un mayor rendimiento de los compuestos antiinflamatorios de *Senecio salignus*. Los solventes elegidos para la extracción se basaron en la estabilidad, en que se pudieran mezclar de manera sencilla con gran parte de los lípidos



orgánicos que se encuentran en la planta, en su rápida evaporan para minimizar el tiempo de eliminación del mismo, los solventes elegidos fueron cloroformo y metanol para realizar las extracciones.

En esta etapa se efectuó la relación sólido-líquido, en donde la porción más conveniente del trabajo realizado es aquella con la que se alcanzaron los mayores rendimientos de extracción obteniendo. Para ello también fue importante el tomar en cuenta el factor temperatura el cual jugo un papel muy importante ya favorece la extracción o el mal manejo de la temperatura puede conducir a la obtención de solutos indeseables. Tomando en cuenta estos puntos, la relación de solido – liquido fueron 300 g de *Senecio salignus* (seco y triturado) en 2 L de cloroformo o de metanol según corresponda para cada extracto. La temperatura no paso de los $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar aumento hasta el punto ebullición de los solventes utilizados ya que el punto de ebullición de cloroformo es de $64.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ y del metanol es de $61.2\text{ }^{\circ}\text{C}$. El tiempo de extracción que se dejó a reflujo fue por 4 horas ya que se logró con este tiempo el mayor rendimiento del producto esto significa que a mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentración.

En la etapa de la separación sólido líquido se realiza por filtración al vacío con el objetivo de retirar el material inerte o inactivos de la planta (el bagazo de *Senecio salignus*) residual del principio activo vegetal (el extracto de *Senecio salignus*) después de la extracción, una vez que se realiza la extracción y separación se procede a eliminar parte del solvente de extracción para aumentar el contenido de sólidos en el extracto. El rotavapor es una alternativa para realizar este proceso es a presión reducida con lo que se disminuye la temperatura de calentamiento necesaria para la salida del solvente sea más eficiente, con el objetivo de obtener extractos concentrados.

Las siguientes etapas se llevaron acabo de acuerdo al desarrolló el diseño experimental para evaluar la actividad antiinflamatoria de *Senecio salignus*.^{5 y 6}

Resultados

En el modelo de edema auricular inducida por TPA en ratón, el extracto con mayor actividad antiinflamatorio fue el extracto Cloroformico. (Tabla 1 y Figura 1)

Tabla 1. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el de edema auricular inducida por TPA.

% de inhibición	Indometacina	Ext. Metanólico	Ext. Clorofórmico
	2 mg	2 mg	2 mg
	54.43 ± 1.06	27.71 ± 3.10	41.96 ± 1.11

Los datos están expresados por medias \pm E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Clorofórmico. (n=8).



Al completar el periodo de dos semanas en el modelo de edema auricular inducida por múltiples aplicaciones de TPA en ratón, el extracto con mayor actividad antiinflamatorio fue el extracto Cloroformico. (Tabla 2 y Figura 2).

Tabla 2. Actividad antiinflamatorio de los extractos de *Senecio Salignus* en el edema auricular inducido por múltiples aplicaciones de TPA.

% de inhibición	Indometacina	Ext. Metanólico	Ext. Cloroformico
	2 mg	2 mg	2 mg
	46.00 ± 0.45	27.70 ± 0.76	39.20 ± 0.65

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.01$, Indometacina vs Ext. Metanólico y Ext. Cloroformico. (n=8).

La purificación del extracto cloroformico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna se obtuvieron cinco fracciones a las que se denominaron S1, S2, S3, S4 y S5, las fracciones S2 y S3 presentaron mayor actividad antiinflamatoria en el modelo de edema auricular en ratón inducido por TPA, cuyos resultados se muestran en la tabla 3 y figura 3.

Tabla 3. Actividad antiinflamatoria de las fracciones de *Senecio Salignus* obtenidas por cromatografía en columna en el edema auricular inducido por TPA.

% de inhibición	Indometacina	S1	S2	S3	S4	S5
	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	73.50 ± 0.74 *	33.99 ± 1.71	71.93 ± 0.96 *	61.93 ± 1.08	53.93 ± 1.18	25.13 ± 1.06

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs S1, S2, S3, S4 y S5. (n=8).

Las fracciones S2 y S3 fueron aplicados el modelo de edema plantar por carragenina en rata. La fracción que mostro mayor % de inhibición y menor desplazamiento de volumen correspondió a S2 a dosis de 200 mg/kg en la 5 hora. (Tabla 4)



Tabla 4. Actividad antiinflamatoria de las fracciones S2 y S3 de *Senecio Salignus* en el modelo edema plantar inducido por Carragenina en rata.

% de inhibición	Indometacina	Media de las fracciones (S2) de <i>Senecio salignus</i>			
	8 mg / kg	200 mg / kg	100 mg / kg	50 mg / kg	25 mg/ kg
	73.5 ± 0.74	63.99 ± 1.71	57.3 ± 1.60	38.5 ± 1.80	31.2 ± 0.80

% de inhibición	Indometacina	Media de las fracciones (S3) de <i>Senecio salignus</i>			
	8 mg / kg	200 mg / kg	100 mg / kg	50 mg / kg	25 mg/ kg
	73.5 ± 0.74 *	71.93 ± 0.96 *	60.10 ± 1.40	54.6 ± 1.60	35.9 ± 1.70

Los datos están expresados por medias ± E.E. * $p < 0.05$, Indometacina vs 200, 100, 50 25 mg / kg de S2 y S3. (n=8).

Discusión

La inflamación constituye un problema de salud importante que se presenta en el organismo como una respuesta frente a una agresión, agente ambiental o agente químico como lo es al inducir la inflamación por TPA el cual estimula la iniciación de la respuesta inflamatoria con el mecanismo de fosfolipasas y ciclooxigenasas, lo que produce la liberación de ácido araquidónico y prostaglandinas ⁷.

En este trabajo se encontró que el extracto Clorofórmico y 2 de las fracciones obtenidas de *Senecio Salignus*, tenía actividad antiinflamatoria en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones de forma aguda y crónica, así como en el modelo de edema plantar en ratas inducido por carragenina.

Las fracciones denominadas S2 y S3 clorofórmico estas dos fracciones se consideran como las responsables de la actividad antiinflamatorio de *Senecio Salignus* en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones, se comprueba esta actividad de las fracciones S2 y S3 en el modelo de edema plantar a dosis de 200 mg /kg en ratas. La fracción S2 mostró una buena actividad, lo que sugiere que al menos uno de los compuestos presentes de *Senecio salignus* puede inhibir el proceso inflamatorio, lo que produce el efecto observado ^{8y9}.



Los resultados de este estudio validan el uso de *Senecio Salugnus* en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Estos resultados son prometedores e invitan a continuar estudios sobre estas fracciones a fin de aislar sus compuestos activos y evaluarlos en otros modelos de inflamación tanto agudos como crónicos, así como de determinar los posibles mecanismos implicados en el efecto farmacológico mediante su evaluación frente a mediadores específicos del proceso inflamatorio como las prostaglandinas, el óxido nítrico, la mieloperoxidasa y el factor de necrosis tumoral, además de examinar su capacidad de actuar como captadoras de radicales libres¹⁰.

Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el extracto clorofórmico tiene actividad antiinflamatoria, también valida su uso en la medicina popular. Este extracto podría ser promisorio para el desarrollo de un fitomedicamento para el tratamiento de la inflamación. Se requieren estudios posteriores para aislar e identificar los compuestos responsables de la actividad y también para investigar el mecanismo involucrado en el efecto antiinflamatorio observado.

Lista de referencias

1. Villalva E., 2014, Inflamación I, Revista de Actualización Clínica, 43.
2. Candia R. y de Paz J. A., 2014, ¿Son efectivos los Antiinflamatorios no esteroides en el Tratamiento del Dolor muscular tardío?, Universidad de Chihuahua (IBIOMED), 24071.
3. <http://www.drugabuse.gov/Durgacts/> 17 Enero 2018
4. Lahoud V., 2001, Efectos adversos asociados con los fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINES), Odontología Sanmarquina, 1 (7).
5. L. M. de Young, J. B. Kheifets, S. J. Ballaron, y J.M. Young, 1989, Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents, *Agents and Actions*, 26, 3-4, 335–341.
6. C. A. Winter, E. A. Risley y C. W Nuss., 1962, Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 111, 544–547.
7. Paulus H., 1985, Arthritis advisory committee meeting: Postmarketing surveillance of nonsteroidal antiinflammatory drugs, *FDA*, 28 (10).



8. León M., Alvarado A., de Armas J. O., Varens J. A. y Cuesta J. A., 2016, Inflammatory Acute Response. Biochemical and Cellular Considerations, Universidad de Ciencias Médicas, 5 (1).
9. Blanco E. 2009, Tratamiento del dolor agudo, Medicina Familiar SEMERGEN, 36(7), 392–398.
10. Dubova S., Mino D., Torres L. y Romero G., 2017, Conocimiento básico de los riesgos del uso de analgésicos no opioides en pacientes ambulatorios, Salud pública México, 49 (6).