



Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de la planta entera de *Physalis angulata* L. en ratas albinas cepa Holtzman

Glendy Mildreth Marin Sisley¹, Filly Yessenia Max Horna¹, Felipe Ríos Isern², José Aranda-Ventura², Jorge Villacrés Vallejo²

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 30/01/2017

Aprobado: 30/03/2017

Autor correspondiente

José Aranda-Ventura

aranven9@yahoo.es

+511965766025

Financiamiento

Instituto de Medicina Tradicional.
IMET-EsSalud.

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Marin Sisley GM, Max Horna FY, Ríos Isern F, Aranda-Ventura J, Villacrés Vallejo J. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de la planta entera de *Physalis Angulata* L. en ratas albinas cepa Holtzman. Rev Peru Med Integrativa.2017;2(1):38-46.

Resumen

Objetivo. Evaluar la actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado (EAL) de la planta entera de *Physalis angulata* L. "bolsa mullaca". **Materiales y métodos.** Se usaron 32 ratas albinas divididas en cuatro grupos: agua destilada 3 mL (control); Metisoprinol (isoprinosine) 14,7 mg/kg; EAL *Physalis angulata* L. 8,6 mg/kg; y EAL *Physalis angulata* L. 17,2 mg/kg. El modelo de inmunoestimulación usado fue el de Delaveau *et al.* Se midió el porcentaje de linfocitos, neutrófilos segmentados; porcentaje de activación de la respuesta del sistema inmune (%ARSI) y absorbancia basal y a las 1 h, 3 h, 6 h y 24 h después de las intervenciones. **Resultados.** Se encontraron diferencias significativas en los valores de absorbancias cuando se realizó la comparación de todos los grupos de experimentación con el grupo control ($p < 0,001$). Los grupos *Physalis angulata* 8,6 mg/kg y *Physalis angulata* 17,2 mg/kg presentaron sus %ARSI más altos a las seis horas de exposición (50,45 y 58,79% respectivamente). Los porcentajes de linfocitos y neutrófilos segmentados en los grupos isoprinosine 14,7 mg/kg, *P. angulata* 8,6 mg/kg, *P. angulata* 17,2 mg/kg fueron significativamente diferentes en comparación con los controles a las 3 h, 6 h y 24 h de intervención. **Conclusiones.** El EAL de *Physalis angulata* L. a dosis de 17,2 mg/kg mostró la mejor actividad inmunoestimulante, siendo quien más se acercó al efecto del isoprinosine 14,7 mg/kg.

Palabras clave: Plantas Medicinales; Adyuvantes Inmunológicos; *Physalis*/efectos de drogas (Fuente: DeCS)

Immunoestimulant activity of *Physalis angulata* L whole plant-lyophilized aqueous extract in albino Holtzman rats

Abstract

Objective. To evaluate immunostimulant activity of *Physalis angulata* L. "bolsa mullaca" whole plant aqueous lyophilized extract (EAL). **Materials and Methods.** We used 32 albino rats, which were divided in four groups: distilled water 3mL (control); Metisoprinol (Isoprinosine) 14.7 mg/Kg; EAL *Physalis angulata* L. 8.6 mg/Kg; and EAL *Physalis angulata* L. 17.2 mg/Kg. The immunostimulant model of Delaveau *et al* was used. Lymphocytes (%), Segmented Neutrophils (%), Activation percentage of immune system response (%ARSI) and basal absorbance were measured 1h, 3h, 6h and 24 h after the intervention. **Results.** Significant differences were found in absorbance's values when comparison between all experimental groups and control groups was made ($p < 0.001$). The *Physalis angulata* 8.6 mg /Kg and *Physalis angulata* 17.2 mg/Kg groups presented their higher %ARSI at six hours after exposition (50.45% and 58.79%, respectively). The lymphocytes (%) and segmented neutrophils (%) in Isoprinosine 14.7 mg/Kg, *P. angulata* 8.6 mg/kg and *P. angulata* 17.2 mg/kg groups had significant differences in comparison between control group at 3h, 6h and 24h after intervention. **Conclusion.** The *Physalis angulata* L EAL with a dose of 17.2 mg/Kg showed the best immunostimulant activity and it had the most similar effect to Isoprinosine 14.7 mg/Kg.

Keywords: Medicinal, Plants; Adjuvants, Immunologic; *Physalis* /drug effects (Source: MeSH)

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). Iquitos-Perú.

² Instituto de Medicina Tradicional (IMET). Seguro Social de Salud. Iquitos-Perú.

Introducción

Las plantas medicinales cumplen un importante papel en el cuidado de la salud de las personas. Aproximadamente el 80% de la población de los países en desarrollo todavía usan la medicina tradicional derivada de plantas, para satisfacer las necesidades primarias de salud ⁽¹⁾. Actualmente, diversas especies vegetales están siendo utilizadas en la medicina con el fin de determinar las propiedades y efectos terapéuticos, así como los principios activos que poseen, los cuales son los responsables de aliviar y curar enfermedades ⁽²⁾.

Physalis angulata L “bolsa mullaca” es una especie de la familia Solanaceae, usada por nativos de la Amazonía peruana para el tratamiento de enfermedades respiratorias, problemas urinarios, artralgias y tumores ⁽³⁾. Los frutos y otras partes aéreas han demostrado tener capacidades antiinflamatorias ⁽⁴⁾, analgésicas ⁽⁵⁾, antiparasitarias ⁽⁶⁾, antimicrobianas ⁽⁷⁾, antiespasmódicas ⁽⁸⁾, y antimutagénicas ^(9,10).

Estos efectos se atribuyen a su composición fitoquímica en donde se pueden encontrar flavonoides, alcaloides y diferentes esteroides; dentro de estos grupos se hallan principalmente fisalinas (hojas); witanólidos (toda la planta) y fisagulinas (hojas y semillas), a las cuales se les asocia los efectos antiinflamatorios, antitumorales y antiparasitarios (específicamente en el caso de *Trypanosoma cruzi*), respectivamente ^(9,11).

Se ha estudiado la posibilidad de que esta especie muestre efectos antiproliferativos por parte de las fisagulinas y witanólidos, en células tumorales humanas de cáncer de próstata, carcinoma renal y melanoma, así como a efectos inhibitorios sobre la producción de óxido nítrico inducido por lipopolisacáridos en macrófagos ⁽¹⁰⁾ y antitumorales (tanto *in vivo* como *in vitro*); encontrándose efectos citotóxicos en varias líneas neoplásicas debido a la acción de algunas fisalinas provenientes del extracto acuoso liofilizado en concentraciones por encima de 6 µg/mL o de componentes aislados purificados de esta especie (IC_{50} =0,58-15,18 µg/mL para fisalina B y 0,28-2,43 µg/mL para fisalina D) ^(12,14) e inhibición de la proliferación tumoral como se observa por la reducción del patrón de tinción Ki67 en tumores de animales tratados ⁽¹³⁾, de linfoma y de carcinoma de Erlich en modelos murinos ⁽¹⁵⁾.

Debido a estos resultados, se ha postulado que *Physalis angulata* L podría tener efectos inmunomoduladores, como estimulante de la respuesta inmune, tanto humoral

como celular, lo cual se ha demostrado en estudios anteriores donde se ha obtenido respuesta positiva en la producción de anticuerpos en ratas ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Por ello, el objetivo de este estudio es evaluar la actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado (EAL) de la planta entera de *Physalis angulata* L. “bolsa mullaca” utilizando el ensayo de estimulación del retículo endotelial de Delaveau.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se recolectó la planta entera de *Physalis angulata* L, en el jardín botánico del Instituto de Medicina Tradicional IMET – EsSalud, ubicado en la ciudad de Iquitos- Loreto, en una zona de vida considerada bosque tropical húmedo. Fue identificado taxonómicamente en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana-UNAP (Herbarium 33677). La recolección de las muestras de esta planta se realizó en febrero de 2012.

Preparación del extracto

Ejemplares de la planta entera fueron limpiados para eliminar elementos extraños, se picaron y secaron a 45 °C, luego se sometieron a cocción (100 g en 1 L de agua) hasta llevar a sequedad las $\frac{3}{4}$ partes a temperatura de 60 °C, fue filtrado y congelado a - 22 °C, se liofilizó a - 40 °C con una presión de $1,33 \times 10^{-3}$ Mbarr, durante, aproximadamente, 72 horas, se usó el equipo liofilizador LABCONCO (Modelo 77500—01).

Animales de experimentación

Los animales utilizados fueron 32 ratas albinas (*Rattus norvegicus* cepa Holtzman), machos, de 13 a 15 semanas de edad, con un peso comprendido entre 200 y 300 g, obtenidos del Centro Nacional de Productos Biológicos del INS, los cuales fueron acondicionados en las instalaciones del bioterio del Instituto de Medicina Tradicional IMET – EsSalud, a una temperatura de 20 a 25 °C, con una humedad promedio de 40–70%, y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas, manteniéndolos con libre acceso al agua y alimentos. El manejo de los animales se hizo cumpliendo estrictamente con las normas establecidas para el uso de animales en trabajos de laboratorio, respetando los derechos universales de los mismos de acuerdo con la Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre el uso de animales en la investigación Biomédica ⁽¹⁹⁾.

Caracterización del extracto

Se realizaron pruebas fisicoquímicas de caracterización, mediante cambios de coloración o formación de precipitados, de acuerdo a protocolos anteriores ⁽²⁰⁾, determinándose metabolitos secundarios como grupos de compuestos en el Departamento de Farmacognosia del IMET-EsSalud. A continuación, se determinaron con más precisión los metabolitos secundarios mediante cromatografía de gases con espectrometría de masa, usando un equipo Agilent Technologies 7890^a® con una columna capilar Agilent 122-5532 DB 5MS® de 30 m, con diámetro interior de 0,25 mm. La temperatura inicial del horno fue de 100 °C /03 min, seguida de una rampa de 20 °C/3 min hasta 300 °C/19 min; la temperatura máxima del horno fue 325 °C. Se utilizó una inyección *Split* y el flujo de gas helio fue de 2 mL/min. Los fragmentos para los analitos se registraron con los parámetros para un barrido (*scan*) de 50 a 500 m/z. Este procedimiento se realizó en el Laboratorio del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina-Perú.

Ensayo de estimulación retículo endotelial

Los animales fueron divididos en cuatro grupos de ocho animales, los cuales recibieron cada uno por vía oral las siguientes sustancias: Grupo I: agua destilada 3 mL; Grupo II: metisoprinol (isoprinosine) 14,7 mg/kg; Grupo III: EAL *Physalis angulata* L. 8,6 mg/kg; Grupo IV: EAL *Physalis angulata* L. 17,2 mg/kg.

Se realizó el método de Delaveau et al. ^(21,22), se sometieron a un ayuno de 12 horas, se determinaron los datos basales de cada animal, se administraron las sustancias según grupos experimentales por un período de 5 días por vía oral, transcurridos las 24 horas de la última aplicación, se administró 0,5 mL de solución de azul de metileno al 10 % vía endovenosa, utilizando la vena sagital de la cola, se extrajeron muestras de sangre venosa a la 1, 3, 6 y 24 horas, se hemolizó 10 µL de sangre en 5 mL de agua destilada, se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV-Visible, longitud de onda 650 nm, filtro rojo, se efectuó frotis, tiñéndose con el colorante Wrigth, para hacer el recuento diferencial de células, se compararon los resultados obtenidos. Se calculó el porcentaje de activación de la respuesta del sistema inmune, mediante la fórmula:

$$\% \text{ ARSI} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C = Control negativo.

T = Tratamiento.

%ARSI = Porcentaje de activación del sistema inmune.

En este estudio se decidió el uso de isoprinosine 14,7mg/kg como estándar farmacológico, cuyo mecanismo de acción consiste en la activación de los linfocitos T y el aumento consiguiente de interleukinas y de la transformación de los linfocitos B en células plasmáticas ^(23,24).

Exámenes auxiliares

Los porcentajes de linfocitos y neutrófilos segmentados se determinaron en forma basal y a la 1 h, 3 h, 6 h y 24 h posteriores a las intervenciones en los grupos mencionados. Los valores fueron determinados a partir de una muestra de sangre obtenida con un capilar de la región de la cola (a nivel de la vena caudal). Dichas muestras se extendieron en láminas portaobjetos y luego se llevaron a tinción con el colorante Wrigth por 10 min; haciendo uso del contador de células manual se realizó la lectura de 100 células entre linfocitos y segmentados, esta se realizó en el microscopio con objetivo de 40 X.

Análisis estadístico

Se calculó las medias y desviación estándar de las absorbancias como medida de la captación del azul del metileno al 10% en la sangre de las ratas albinas. La comparación entre las absorbancias de los diversos grupos se evaluó mediante el método de análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas y de dos factores con varias medidas por grupo (comparación con el grupo control) que se encuentra contenido en el programa estadístico SPSS versión 19.0, considerando como nivel de significancia estadística (p<0,05).

Resultados

El cromatograma mostrado en el Gráfico 1 muestra los distintos picos en base a los tiempos de retención y el porcentaje de área de los fitoconstituyentes del extracto acuoso liofilizado de *Physalis angulata* L. Dentro de estos se encontraron fenoles y compuestos derivados de alcaloides y nitrilos (Tabla 1).

Se encontraron diferencias significativas en los valores de absorbancias cuando se realizó la comparación de todos los grupos de experimentación con el grupo control.

Tabla 1. Análisis de cromatografía gaseosa con espectrometría de masa (GC- MS) del extracto acuoso liofilizado de la planta entera de *Physalis angulata* L.

Pico	Probabilidad	% Área	Molécula	Fórmula molecular	Peso molecular	Familia química
1	10,4	33,8	2-isopropoxi fenol	$C_9H_{12}O_2$	152,19	Fenólico
2	12,1	22,8	Hidroquinona	$C_6H_6O_2$	110,11	Fenólico
3	15,0	10,3	Adenosina, 4-dehidroximetil-4-(N-etilaminoformilo)-N-(nitrilo)	$C_{19}H_{21}N_7O_6$	442,42	Alcaloide/Purina
4	13,4	14,9	Tetraacetil-d-nitrilo xilonico	$C_{14}H_{17}NO_9$	343,0	Nitrilo
5	35,0	4,8	Ester metílico de 10-heptadecano-8-ácido ionico	$C_{18}H_{30}O_2$	278,43	Ester
6	9,34	3,9	Ester dimetilico del ácido 4-Metoxicarbonilmetilundec-3-enedoico	$C_{16}H_{26}O_6$	310,5	Ester/Pirano
7	26,2	5,2	4-((1-E)-3-hidroxi-1-propenilo)-2-metoxifenol (alcohol coniferilico)	$C_{10}H_{12}O_3$	180,18	Fenólico
8	13,9	4,3	Ácido propiolico, 3-(1-hidroxi-2-isopropil-5-metil ciclohexano)	$C_{10}H_{22}O_2$	234,21	Acido carboxílico/ carboxialcohol

También se encontraron diferencias significativas en los tiempos en los grupos isoprinosine 14,7 mg/kg y *P. angulata* 17,2 mg/kg (Tabla 2).

Con respecto al %ARSI promedio, se observó que el grupo isoprinosine 14,7 mg/kg obtuvo el %ARSI más alto a las tres horas de la intervención (69,23%); a diferencia de los

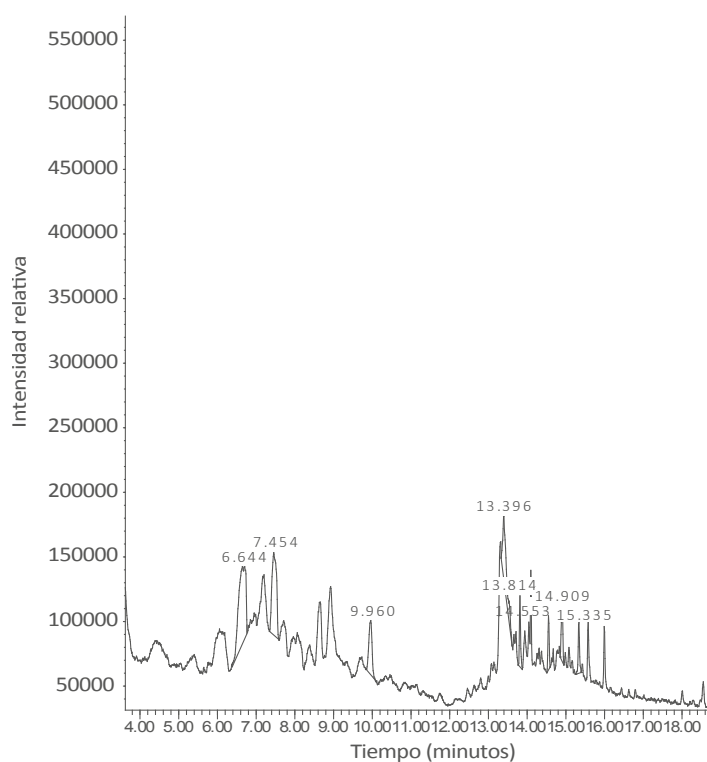


Gráfico 1. Cromatografía de gases y espectrometría de masa de los fitoconstituyentes de *Physalis angulata* L.

Tabla 2. Valores promedio de absorbancia por horas de exposición y por grupo de estudio

Grupo de estudio	Basal	1 hora	3 horas	6 horas	24 horas	valor p (*)	R2 ajustado	Interacción con grupo control (¶)
Control	0,147 ± 0,024	0,165 ± 0,021	0,195 ± 0,028	0,118 ± 0,021	0,140 ± 0,016	<0,001	0,643	NA
Isoprinosine 14,7 mg/kg	0,169 ± 0,025	0,114 ± 0,026	0,052 ± 0,013	0,112 ± 0,008	0,125 ± 0,013	<0,001	0,796	<0,001
<i>P. angulata</i> 8,6 mg/kg	0,078 ± 0,011	0,064 ± 0,011	0,042 ± 0,011	0,032 ± 0,009	0,041 ± 0,008	0,058	0,627	<0,001
<i>P. angulata</i> 17,2 mg/kg	0,041 ± 0,027	0,035 ± 0,027	0,241 ± 0,010	0,021 ± 0,007	0,024 ± 0,006	<0,001	0,910	<0,001

(*) ANOVA de medidas repetidas. (¶) ANOVA de dos factores con varias medidas por grupo.

grupos intervenidos con extractos de *Physalis angulata* 8,6 mg /kg y *Physalis angulata* 17,2 mg/kg quienes tuvieron sus %ARSI más altos a las seis horas de exposición (50,45 y 58,79% respectivamente), manteniéndose estos valores por encima del grupo isoprinosine hasta el final de la intervención.

En la evaluación de las células del sistema inmune (linfocitos y segmentados), se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de estas células en los grupos isoprinosine 14,7 mg/kg, *P. angulata* 8,6 mg/kg, *P. angulata* 17,2 mg/kg en comparación con los controles a las tres, seis y 24 horas de intervención (Tabla 3). El único grupo que mostró diferencias significativas desde los valores basales, fue el de *P. angulata* 17,2 mg/kg (Gráfico 3). Cabe destacar que no se encontró mortalidad en ninguno de los grupos de estudio.

Discusión

En este estudio se encontró que el extracto de *Physalis angulata* a dosis de 17,2 mg/kg tuvo el mejor desempeño de activación del sistema inmune (%ARSI promedio de 58,8% a las 6 h); sin embargo, este desempeño fue inferior al del isoprinosine que consiguió un %ARSI promedio de 69,2% a las 3 horas. Se han realizado estudios similares con otras especies vegetales como *Mansoa alliacea* L.⁽²⁵⁾, y *Myrciaria dubia*⁽²⁶⁾, las cuales presentan su mejor %ARSI a las 24 horas; a diferencia de *Epehedra americana*⁽²⁷⁾ y *Annona muricata*⁽²⁸⁾ quienes tienen un mejor %ARSI a las 3 horas (más parecido al isoprinosine).

En relación al comportamiento de linfocitos y segmentados, las dos dosis de *Physalis angulata* L. demostraron efectos

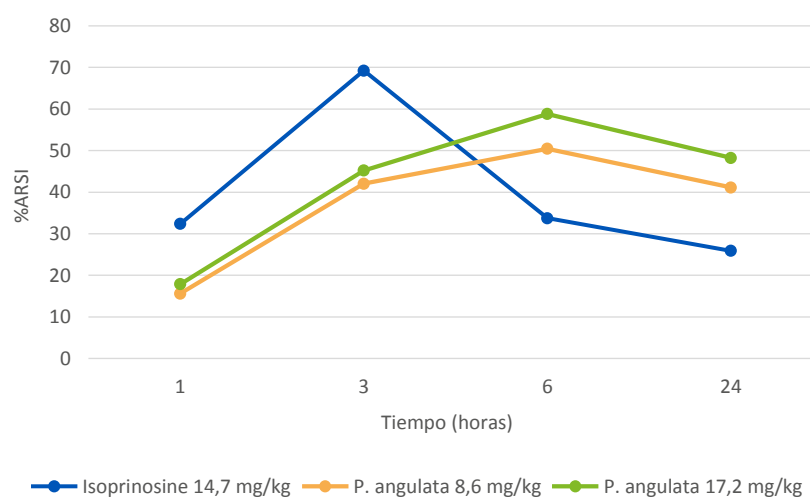
**Gráfico 2.** Variación del %ARSI en función del tiempo de acuerdo a grupo de estudio.

Tabla 3. Promedios y desviaciones estándar de los porcentajes de linfocitos y segmentados por tiempo de intervención y por grupo de estudio^(*) Prueba t de Student estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en comparación con el grupo control

	Basal		1 hora		3 horas		6 horas		24 horas	
	Linfocitos (%)	Segmentados (%)	Linfocitos (%)	Segmentados (%)	Linfocitos (%)	Segmentados (%)	Linfocitos (%)	Segmentados (%)	Linfocitos (%)	Segmentados (%)
Control	63,6 ± 5,1	36,3 ± 5,2	59,4 ± 5,6	40,6 ± 5,6	61,3 ± 4,9	38,6 ± 4,9	63,0 ± 4,4	36,0 ± 4,4	60,0 ± 8,9	52,8 ± 8,9
Isoprinosine 14,7 mg/kg	69,5 ± 5,1	30,5 ± 6,6	66,1 ± 6,7	33,9 ± 6,7	79,0 ± 7,3 ^(*)	21,0 ± 7,3 ^(*)	75,6 ± 6,8 ^(*)	23,1 ± 7,4 ^(*)	73,8 ± 6,8 ^(*)	26,1 ± 6,8 ^(*)
P. angulata 8,6 mg/kg	59,8 ± 3,6	40,2 ± 3,7	59,6 ± 4,2	40,4 ± 4,2	69,0 ± 3,7 ^(*)	31,0 ± 3,8 ^(*)	75,3 ± 5,6 ^(*)	24,8 ± 5,6 ^(*)	71,6 ± 5,2 ^(*)	28,4 ± 5,2 ^(*)
P. angulata 17,2 mg/kg	69,6 ± 2,4 ^(*)	30,4 ± 2,4 ^(*)	67,5 ± 3,1 ^(*)	32,5 ± 3,1 ^(*)	71,0 ± 2,1 ^(*)	29,0 ± 2,1 ^(*)	79,3 ± 2,3 ^(*)	20,8 ± 2,3 ^(*)	69,6 ± 1,7 ^(*)	30,4 ± 1,7 ^(*)

parecidos a los del isoprinosine, sobre todo a partir de las 3 horas posintervención, presentándose una tendencia creciente en el porcentaje de linfocitos y decreciente en el caso de neutrófilos segmentados. Con respecto a la actividad inmunomoduladora de esta especie, hay algunos estudios que podrían ayudar a explicar estos resultados. Por ejemplo, Lin *et al.* ⁽²⁹⁾, desarrolló en 1992 un estudio que encontró actividad estimulante de linfocitos B y linfocitos T (en menor medida), en

fracciones de extractos etanólicos de *Physalis angulata* L administrados a ratones de experimentación.

Otros estudios más recientes han evaluado la capacidad inmunosupresora *in vitro* de algunos componentes de esta especie vegetal (como fisalinas y witanolidos) en macrófagos y *shock* inducido por lipopolisacáridos ⁽²⁹⁾; así como, en la sobreexpresión de linfocitos T y el balance de linfocitos Th1/Th2 mediante la estimulación de la hemooxigenasa ⁽³¹⁾.

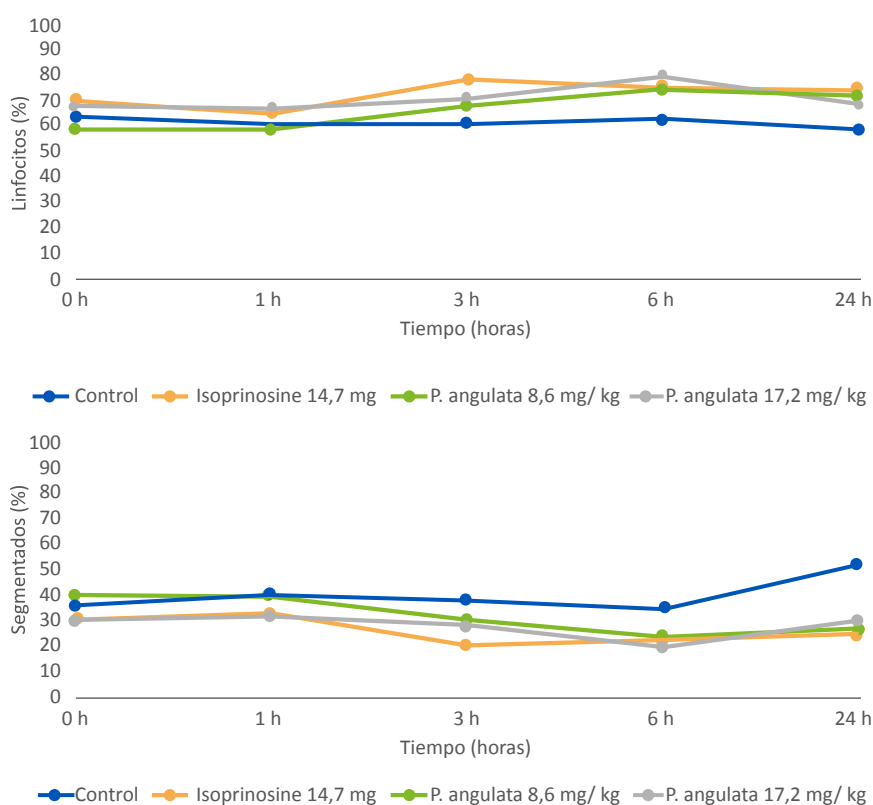


Gráfico 3. Variaciones de los porcentajes de linfocitos y segmentados en el tiempo de intervención

Así mismo, se ha encontrado que los extractos acuosos de *Physalis angulata* L. estimulan la diferenciación de células de médula ósea en macrófagos⁽³²⁾.

Como ya se mencionó, dentro de los componentes más ligados a estas acciones moduladoras del sistema inmune se encuentran las fisalinas. Pinto *et al.*⁽³³⁾, encontraron que la fisalina F induce cambios ultraestructurales en los núcleos y mitocondrias de linfocitos B periféricos, induciendo su apoptosis en pacientes con infección por HTLV-1. Yu *et al.*⁽³⁴⁾ demostraron el efecto inmunosupresor de la fisalina H en células T en forma dosis-dependiente mediante la modulación del balance de células Th1/Th2 y la inducción de la producción de hemooxigenasa 1 en linfocitos T. Soares *et al.*⁽³⁵⁾ demostraron la actividad supresora de las fisalinas B, F y G en la función linfocitaria e indican el uso potencial de las fisalinas como agentes inmunosupresores para los tratamientos de patologías en las cuales se desea la inhibición de la respuesta inmune.

En este estudio no se pudo identificar la presencia de fisalinas o witanolidos en el extracto acuoso, esto podría deberse a la naturaleza del extracto que hace difícil la detección de fisalinas, las cuales han sido observadas en extractos etanólicos y metanólicos^(12,36,37). Asimismo, cuando se realizó la caracterización química del extracto de *Physalis angulata*, el equipo CG-MS estaba calibrado para detectar solo moléculas con un peso molecular entre 50 a 500 g/mol y la fisalinas A, B, D, E, F y G, tienen

un peso molecular mayor de 500 g/mol⁽³⁸⁾, por lo cual era de esperarse que no se detecten. Por ello, se recomienda que futuros estudios ahonden en la investigación en estas sustancias ampliando el rango de detección de pesos moleculares en el equipo CG-MS de 50 a 1000 g/mol y usando diferentes extractos.

A pesar de las limitaciones, el presente estudio podría ayudar a sentar las bases para iniciar los estudios que permitan evaluar la potencialidad de los extractos de *Physalis angulata* L. como posible opción de tratamiento para enfermedades proliferativas malignas, sobre todo en aquellas cuya fisiopatología involucre una disfunción del sistema inmune celular.

Finalmente, se concluye que los extractos acuosos de *Physalis angulata* L, a dosis de 8,6 mg/kg y 17,2 mg/kg mostraron actividad inmunoestimulante, donde la dosis de 17,2 mg/kg mostró un comportamiento más similar al isoprinosine 14,7 mg/kg.

Agradecimientos

El equipo de investigación desea agradecer al QF Henry Delgado Wong por su valiosa ayuda en el manejo de los equipos y el desarrollo del trabajo experimental de acuerdo al protocolo implementado en el Instituto de Medicina Tradicional (IMET).

Referencias bibliográficas

- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional (2014-2023) [Internet]. Hong Kong; 2013. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js21201es/>
- Singh R. Medicinal Plants: A Review. J Plant Sci. 2015;3(1):50–5.
- Rengifo E, Vargas-Arana G. *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): A Review of its Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology. Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas. 2013;12(5):431–45.
- Yang Y-J, Yi L, Wang Q, Xie B-B, Dong Y, Sha C-W. Anti-inflammatory effects of physalin E from *Physalis angulata* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells through inhibition of NF-κB pathway. Immunopharmacol Immunotoxicol. abril de 2017;39(2):74–9.
- Lima M da S, Evangelista AF, Santos GGLD, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Pereira Soares MB, *et al.* Antinociceptive properties of physalins from *Physalis angulata*. J Nat Prod. 26 de noviembre de 2014;77(11):2397–403.
- Meira CS, Guimarães ET, Dos Santos JAF, Moreira DRM, Nogueira RC, Tomassini TCB, *et al.* In vitro and in vivo antiparasitic activity of *Physalis angulata* L. concentrated ethanolic extract against *Trypanosoma cruzi*. Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm. 15 de octubre de 2015;22(11):969–74.
- Osho A, Adetunji T, Fayemi SO, Moronkola D. Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Physalis Angulata*. L. Afr J Tradit Complement Altern Med. 3 de julio de 2010;7(4):303–6.
- Freitas T. de A., Rodrigues AC, Osuna JTA. Cultivation of *Physalis angulata* L. and *Anadenanthera colubrina*

- [(Vell.) Brenan]species of the Brazilian semi-arid. Rev Bras Pl Med Botucatu. 2006;8:201–4.
9. Salgado ER, Arana GV. Usos tradicionales, fitoquímica y farmacología de la bolsa mullaca (*Physalis angulata* L.). Rev Fitoter. 2014;14(1):49–64.
10. Sun C-P, Qiu C-Y, Yuan T, Nie X-F, Sun H-X, Zhang Q, *et al.* Antiproliferative and Anti-inflammatory Withanolides from *Physalis angulata*. J Nat Prod. 24 de junio de 2016;79(6):1586–97.
11. Sharma N, Bano A, Dhaliwal HS, Sharma V. A pharmacological comprehensive review on “Rassbhary” *Physalis angulata* (L.). Int J Pharm Pharm Sci. 2015;7(8):34–8.
12. Kuo P-C, Kuo T-H, Damu AG, Su C-R, Lee E-J, Wu T-S, *et al.* Physanoline A, a novel skeleton steroid, and other cytotoxic principles from *Physalis angulata*. Org Lett. 6 de julio de 2006;8(14):2953–6.
13. Magalhães HIF, Veras ML, Torres MR, Alves APNN, Pessoa ODL, Silveira ER, *et al.* In-vitro and in-vivo antitumour activity of physalins B and D from *Physalis angulata*. J Pharm Pharmacol. febrero de 2006;58(2):235–41.
14. Alves dos Santos R, Cabral TR, Cabral IR, Antunes LM, Pontes Andrade C, Cerqueira dos Santos Cardoso P, *et al.* Genotoxic effect of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) extract on human lymphocytes treated in vitro. Biocell Off J Soc Latinoam Microsc Electron Al. agosto de 2008;32(2):195–200.
15. Ribeiro IM, Silva MTG, Soares RDA, Stutz CM, Bozza M, Tomassini TCB. *Physalis angulata* L. antineoplastic activity, in vitro, evaluation from its stems and fruit capsules. Rev Bras Farmacogn. 2002;12:21–3.
16. Garcia ES, Castro DP, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Azambuja P. Trypanosoma rangeli: Effects of physalin B on the immune reactions of the infected larvae of *Rhodnius prolixus*. Exp Parasitol. enero de 2006;112(1):37–43.
17. Castro DP, Figueiredo MB, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Azambuja P, Garcia ES. Immune depression in *Rhodnius prolixus* by seco-steroids, physalins. J Insect Physiol. marzo de 2008;54(3):555–62.
18. Castro DP, Figueiredo MB, Genta FA, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Azambuja P, *et al.* Physalin B inhibits *Rhodnius prolixus* hemocyte phagocytosis and microaggregation by the activation of endogenous PAF-acetyl hydrolase activities. J Insect Physiol. junio de 2009;55(6):532–7.
19. The World Medical Association. Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [Internet]. 2016 [citado 2 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
20. Corral Salvado A, De la Paz Naranjo J, Concepción Evseeva E, Hernández Royero R, Rodríguez L, Lorelay D. Tamizaje, tecnología, control de calidad y farmacología del extracto fluido de *Bougainvillea spectabilis* Willd. Rev Cuba Plantas Med. agosto de 1997;2(2):19–25.
21. Gershwin ME, Cooper EL. Animal Models of Comparative and Developmental Aspects of Immunity and Disease. Pergamon Press; 1978. 430 p.
22. Delaveau P, Lallouette P, Tessier AM. Drogues végétales stimulant l'activité phagocytaire du système réticulo-endothélial. Stimulation of the phagocytic activity of R. E. S. by plant extracts. Plant Med. 1980;40:49–54.
23. Barasoain I, Rejas MT, Portoles MP, Ojeda G, Rojo JM. Isoprinostine restores in vitro T lymphocyte functions of cyclophosphamide immunosuppressed mice. Int J Immunopharmacol. 1 de enero de 1987;9(4):489–96.
24. Nakamura T, Miyasaka N, Pope RM, Talal N, Russell IJ. Immunomodulation by isoprinostine: effects on in vitro immune functions of lymphocytes from humans with autoimmune diseases. Clin Exp Immunol. abril de 1983;52(1):67–74.
25. Sangama D, Frank C, Saavedra N, Alberto JL. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de “*Mansoa alliacea* L. (ajo sachá)”; en ratas albinas Holtzman, IMET-EsSalud, 2013. Univ Nac Amazon Peru [Internet]. 19 de noviembre de 2014 [citado 12 de junio de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/2519>
26. Macedo Ríos R, Acuña M, Batlu J. Actividad inmunoestimulante del fruto de *Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh “camu camu”, en ratas albinas holtzman, Iquitos 2015. Univ Nac Amaz Peru [Internet]. 2015 [citado 12 de junio de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/3868>
27. Rivera PB, Pareja BP. Flavonoides de *Ephra americana* (pinco pinco), Acción biológica sobre el sistema inmunológico (IgE). Cienc E Investig. 2001;4(1):57–77.
28. Figueroa V, Elena F, Gonzáles L, Inés G. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso de hojas de *Annona muricata* L. “Guanábana”, en ratas albinas Holtzman Iquitos - 2014. Univ Nac Amaz Peru [Internet]. 2015 [citado 12 de junio de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/3863>

29. Lin YS, Chiang HC, Kan WS, Hone E, Shih SJ, Won MH. Immunomodulatory activity of various fractions derived from *Physalis angulata* L extract. Am J Chin Med. 1992;20(3-4):233-43.
30. Soares MBP, Bellintani MC, Ribeiro IM, Tomassini TCB, Ribeiro dos Santos R. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. Eur J Pharmacol. 10 de enero de 2003;459(1):107-12.
31. Sun L, Liu J, Liu P, Yu Y, Ma L, Hu L. Immunosuppression effect of Withangulatin A from *Physalis angulata* via heme oxygenase 1-dependent pathways. Process Biochem. 1 de febrero de 2011;46(2):482-8.
32. da Silva BJM, Rodrigues APD, Farias LHS, Hage AAP, Do Nascimento JLM, Silva EO. *Physalis angulata* induces in vitro differentiation of murine bone marrow cells into macrophages. BMC Cell Biol. 3 de octubre de 2014;15:37.
33. Pinto LA, Meira CS, Villarreal CF, Vannier-Santos MA, de Souza CVC, Ribeiro IM, et al. Physalin F, a seco-steroid from *Physalis angulata* L., has immunosuppressive activity in peripheral blood mononuclear cells from patients with HTLV1-associated myelopathy. Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother. abril de 2016;79:129-34.
34. Yu Y, Sun L, Ma L, Li J, Hu L, Liu J. Investigation of the immunosuppressive activity of Physalin H on T lymphocytes. Int Immunopharmacol. marzo de 2010;10(3):290-7.
35. Soares MBP, Brustolim D, Santos LA, Bellintani MC, Paiva FP, Ribeiro YM, et al. Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. Int Immunopharmacol. marzo de 2006;6(3):408-14.
36. Silva MT, Simas SM, Batista TG, Cardarelli P, Tomassini TC. Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. Mem Inst Oswaldo Cruz. noviembre de 2005;100(7):779-82.
37. Chiang HC, Jaw SM, Chen CF, Kan WS. Antitumor agent, physalin F from *Physalis angulata* L. Anticancer Res. junio de 1992;12(3):837-43.
38. Pubchem Compound Database. Physalin D | C28H32O11 -CID=431071 [Internet]. [citado 13 de enero de 2017]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/431071>