



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN
VIVO DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE *Ageratum conyzoides* L. EN RATONES
*Mus musculus***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTOR: KARLA MIREYA MAINATO COELLO

DIRECTOR: BQF. JOHN MARCOS QUISPILLO. Mgs.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Karla Mireya Mainato Coello**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, KARLA MIREYA MAINATO COELLO, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, marzo 25 del 2022

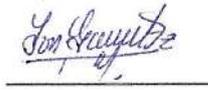
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Karla Mireya Mainato Coello', with a stylized flourish at the end.

Karla Mireya Mainato Coello

060550142-8

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular, tipo: Trabajo experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Ageratum conyzoides* L. EN RATONES *Mus musculus*** realizado por la señorita **KARLA MIREYA MAINATO COELLO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Diego Renato Vinuesa Tapia, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-03-25
BQF. John Marcos Quispillo Moyota, Mgs. DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-03-25
Dra. Nelly Ivonne Guananga Díaz, Mgs. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-03-25

DEDICATORIA

Este Trabajo de Integración Curricular se lo dedico a mi padre Efraín Mainato y a mi madre Alicia Coello Veintimilla, quienes con su amor, paciencia y comprensión se han convertido en el pilar fundamental en el que se cimentó mi desarrollo personal y profesional.

A mis hermanos Sebastian y Esther, a mi abuelita, a todos mis familiares y amigos, quienes siempre me apoyaron a cumplir una de las metas más importantes en mi vida.

Karla

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por brindarme la vida y en ella todas las oportunidades de crecer como persona y como profesional.

A mis padres, a mis hermanos y a mi abuelita quienes son el eje primordial de todos mis logros en la vida y más en esta nueva meta alcanzada.

Mi agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia y a sus docentes por compartir sus conocimientos y experiencias en mi formación académica y personal.

Quiero agradecer a mi director del Trabajo de Integración Curricular BQF. John Quispillo, un excelente docente, quien ha compartido sus conocimientos y me ha brindado su apoyo en el desarrollo de este Trabajo de Integración Curricular.

A Benjamín Román Santos, persona, amigo y técnico docente quien siempre me brindo su apoyo incondicional para la realización practica de este trabajo experimental.

Karla

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Familia Asteraceae.....	4
1.1.1. <i>Genero Ageratum</i>	4
1.1.2. <i>Ageratum conyzoides</i>	4
1.1.2.1. <i>Nombres comunes</i>	5
1.1.2.2. <i>Ubicación taxonómica</i>	5
1.1.2.3. <i>Descripción botánica</i>	5
1.1.2.4. <i>Hábitat</i>	6
1.1.2.5. <i>Composición química</i>	6
1.1.2.6. <i>Usos farmacológicos</i>	6
1.2. Inflamación.....	7
1.2.1. <i>Causas</i>	7
1.2.2. <i>Etapas de la inflamación</i>	8
1.2.2.1. <i>Liberación de mediadores</i>	8
1.2.2.2. <i>Efecto de los mediadores</i>	8
1.2.2.3. <i>Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio</i>	8
1.2.2.4. <i>Regulación del proceso inflamatorio</i>	8
1.2.2.5. <i>Reparación</i>	8
1.2.3. <i>Tipos de inflamación</i>	8
1.2.3.1. <i>Por su duración</i>	8
1.2.3.2. <i>Por el carácter del exudado</i>	9

1.2.3.3.	<i>Por su etiología</i>	9
1.2.3.4.	<i>Por sus características morfológicas</i>	9
1.3.	Fármacos antiinflamatorios	10
1.3.1.	<i>Antiinflamatorios esteroides</i>	10
1.3.2.	<i>Antiinflamatorios no esteroides (AINE's)</i>	10
1.3.2.1.	<i>Clasificación de los AINE's</i>	10
1.3.2.2.	<i>Mecanismo de acción</i>	10
1.4.	Compuestos antiinflamatorios de origen natural	11
1.4.1.	<i>Compuestos fenólicos</i>	11
1.4.2.	<i>Flavonoides</i>	12
1.5.	Geles	12
1.5.1.	<i>Ventajas y desventajas</i>	12
1.5.1.1.	<i>Ventajas</i>	12
1.5.1.2.	<i>Desventajas</i>	13
1.5.2.	<i>Tipos de geles</i>	13
1.5.2.1.	<i>Geles Hidrófobos</i>	13
1.5.2.2.	<i>Geles hidrófilos</i>	13
1.6.	Experimentación animal	13
1.6.1.	<i>Animales de experimentación</i>	13
1.6.2.	<i>Mus musculus</i>	14
1.6.2.1.	<i>Información taxonómica</i>	14
1.6.2.2.	<i>Ventajas del uso de Mus musculus como animales de laboratorio</i>	14
1.6.3.	<i>Manejo y cuidado de ratones</i>	15
1.7.	Métodos para estudiar el material vegetal	15
1.7.1.	<i>Determinación de los parámetros de control de calidad de la droga cruda</i>	15
1.7.1.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	15
1.7.1.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	16
1.7.1.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	16
1.7.1.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	16
1.7.2.	<i>Preparación de los extractos de A. conyzoides</i>	16
1.7.2.1.	<i>Método de extracción por maceración</i>	16
1.7.3.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	16
1.7.4.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico</i>	17
1.7.4.1.	<i>Determinación de las características organolépticas</i>	17
1.7.4.2.	<i>Determinación de la densidad relativa</i>	17
1.7.4.3.	<i>Determinación de sólidos totales</i>	18

1.7.5.	<i>Cuantificación de fenoles totales y flavonoides</i>	18
1.7.5.1.	<i>Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu</i>	18
1.7.5.2.	<i>Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico</i>	18
1.7.6.	<i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo</i>	18

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	19
2.1.	Lugar de la investigación	19
2.2.	Tipo y diseño de investigación	19
2.3.	Población, muestra y/ muestreo	19
2.4.	Variables	19
2.4.1.	<i>Variable Independiente</i>	19
2.4.2.	Variable dependiente	19
2.5.	Hipótesis	20
2.6.	Materiales, equipos y reactivos	20
2.6.1.	<i>Material vegetal</i>	20
2.6.2.	<i>Material biológico</i>	20
2.6.3.	<i>Material farmacológico</i>	20
2.6.4.	<i>Materiales de laboratorio</i>	21
2.6.5.	<i>Equipos</i>	22
2.6.6.	<i>Reactivos</i>	22
2.7.	Técnicas y métodos	23
2.7.1.	<i>Recolección del material vegetal</i>	23
2.7.2.	<i>Preparación del material vegetal</i>	23
2.7.3.	<i>Determinación de los parámetros de control de calidad de la droga cruda</i>	23
2.7.3.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	23
2.7.3.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	24
2.7.3.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	24
2.7.3.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	25
2.7.4.	<i>Obtención de extractos</i>	26
2.7.5.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	26
2.7.5.1.	<i>Ensayo de Sudán</i>	28
2.7.5.2.	<i>Ensayo de Dragendorff</i>	28
2.7.5.3.	<i>Ensayo de Mayer</i>	28
2.7.5.4.	<i>Ensayo de Wagner</i>	28

2.7.5.5.	<i>Ensayo de Baljet</i>	29
2.7.5.6.	<i>Ensayo de Liebermann-Burchard</i>	29
2.7.5.7.	<i>Ensayo de catequinas</i>	29
2.7.5.8.	<i>Ensayo de resinas</i>	29
2.7.5.9.	<i>Ensayo de Fehling</i>	29
2.7.5.10.	<i>Ensayo de la espuma</i>	30
2.7.5.11.	<i>Ensayo del cloruro férrico</i>	30
2.7.5.12.	<i>Ensayo de Borntrager</i>	30
2.7.5.13.	<i>Ensayo de la Ninhidrina</i>	30
2.7.5.14.	<i>Ensayo de Antocianidinas</i>	31
2.7.5.15.	<i>Ensayo de Shinoda</i>	31
2.7.5.16.	<i>Ensayo de Mucílagos</i>	31
2.7.5.17.	<i>Ensayos de principios amargos y astringentes</i>	31
2.7.6.	<i>Preparación del extracto hidroalcohólico de A. conyzoides</i>	31
2.7.7.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico</i>	32
2.7.7.1.	<i>Determinación de las características organolépticas</i>	32
2.7.7.2.	<i>Determinación de la densidad relativa</i>	32
2.7.7.3.	<i>Índice de refracción</i>	33
2.7.7.4.	<i>Medición del pH</i>	33
2.7.7.5.	<i>Determinación de sólidos totales</i>	33
2.7.8.	<i>Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu</i>	33
2.7.9.	<i>Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico</i>	34
2.7.10.	<i>Determinación de los excipientes y la formulación del gel antiinflamatorio</i>	34
2.7.10.1.	<i>Excipientes para la formulación del gel</i>	34
2.7.10.2.	<i>Método de preparación</i>	34
2.7.10.3.	<i>Preparación del gel con extracto de A. conyzoides</i>	34
2.7.11.	<i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo</i>	35
2.7.11.1.	<i>Modelo experimental</i>	35
2.7.12.	<i>Análisis estadístico</i>	36

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	37
3.1.	Identificación de la especie vegetal	37
3.2.	Control de calidad de la droga cruda	37
3.2.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	37

3.2.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	38
3.2.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en H₂O y cenizas insolubles en HCl</i>	38
3.3.	Tamizaje fitoquímico	38
3.4.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico	40
3.5.	Cuantificación de fenoles totales	41
3.6.	Cuantificación de flavonoides totales	42
3.7.	Actividad antiinflamatoria in vivo	43
3.7.1.	<i>Análisis estadístico</i>	44
CONCLUSIONES		48
RECOMENDACIONES		49
GLOSARIO		
BIBLIOGRAFIA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Clasificación de los AINE's según su selectividad por la enzima ciclooxygenasa.....	10
Tabla 1-2:	Descripción de los materiales de laboratorio usados.....	21
Tabla 2-2:	Equipos utilizados en la investigación	22
Tabla 3-2:	Reactivos utilizados en la investigación.....	22
Tabla 4-2:	Formulación del gel a diferentes concentraciones	34
Tabla 5-2:	Tratamientos a realizar con número de mediciones	35
Tabla 1-3:	Control de calidad de la droga cruda.....	37
Tabla 2-3:	Tamizaje fitoquímico de las partes aéreas de <i>A. conyzoides</i>	38
Tabla 3-3:	Control de calidad del extracto hidroalcohólico de <i>A. conyzoides</i>	40
Tabla 4-3:	Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.....	41
Tabla 5-3:	Cuantificación de flavonoides totales por el método colorimétrico de tricloruro de aluminio	42
Tabla 6-3:	Porcentaje de inflamación en diferentes tiempos de medición.	43
Tabla 7-3:	Análisis estadístico Test ANOVA para los tratamientos en los 7 tiempos	45
Tabla 8-3:	Test de Tukey y una confianza de 95%.....	45
Tabla 9-3:	Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	<i>Ageratum conyzoides</i>	5
Figura 1-2:	Protocolo para elaborar los extractos para el tamizaje fitoquímico	26
Figura 2-2:	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto etéreo.....	27
Figura 3-2:	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto alcohólico	27
Figura 4-2:	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto acuoso. ...	27

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Curva de calibración del ácido gálico.	41
Gráfico 2-3:	Curva de calibración de la quercetina	42
Gráfico 3-3:	Porcentaje de inflamación en los tratamientos empleados en el primero (3 horas posterior a la aplicación de carragenina) y último tiempo de medición (7 horas)	44

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A.** PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL (*Ageratum conyzoides*)
- ANEXO B.** DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA
- ANEXO C.** TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS DE LA MATERIA VEGETAL CRUDA
- ANEXO D.** CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
- ANEXO E.** PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Ageratum conyzoides*
- ANEXO F.** CUANTIFICACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES TOTALES
- ANEXO G.** ELABORACIÓN DEL GEL
- ANEXO H.** INDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUPLANTAR CON CARRAGENINA EN *Mus musculus*
- ANEXO I.** ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VIVO*
- ANEXO J.** CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL
- ANEXO K.** AUTORIZACIÓN DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES VEGETALES
- ANEXO L.** PERMISO DE MOVILIZACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A. Conyzoides:	<i>Ageratum conyzoides</i>
AINE's:	Antiinflamatorios no Esteroideos
COX:	Ciclooxigenasa
COX-1:	Ciclooxigenasa 1
COX -2:	Ciclooxigenasa 2
m.s.n.m.:	Metros sobre el nivel del mar
MMP-9:	Metalopeptidasa 9
OA:	Osteoartritis
PG:	Prostaglandinas
SEPAc:	Extracto estandarizado de polimetoxiflavonas
TNF- α:	Factor de necrosis tumoral
USP:	Farmacopea de los Estados Unidos

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antiinflamatorio de un gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Ageratum conyzoides* en animales de experimentación, mediante un modelo experimental de inducción a la inflamación plantar con carragenina. Para lo cual se recolectó, identificó, seleccionó, secó y trituró el material vegetal, para la determinación de los parámetros de calidad de la droga cruda. Posterior se obtuvieron los extractos etéreo, etanólico, acuoso e hidroalcohólico por maceración para realizar el tamizaje fitoquímico, con la finalidad de identificar metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal. El extracto hidroalcohólico fue concentrado y liofilizado, posterior a esto, mediante espectrofotometría UV-Visible se analizaron cuantitativamente compuestos flavónicos y fenólicos presentes en el mismo. Se elaboraron geles con el extracto hidroalcohólico a concentraciones del 5%, 10% y 20% con buenas características organolépticas. Además, se evaluó el efecto antiinflamatorio de los geles en animales de experimentación a los cuales se les indujo inflamación mediante la administración de carragenina al 0,1% en la zona plantar. El área de la inflamación se midió en milímetros. Los valores obtenidos fueron fundamentales para hallar el porcentaje de inflamación a distintos tiempos de medición. Luego se aplicó el análisis estadístico de varianza y la prueba de Tukey para determinar la diferencia significativa entre los tratamientos aplicados. Se obtuvo como resultado que el gel a base de extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* al 20% mostró mayor eficacia antiinflamatoria, estadísticamente similar al diclofenaco sódico 1%, se concluyó que los geles elaborados con el extracto de *Ageratum conyzoides* posee una alta eficacia antiinflamatoria gracias a la presencia de flavonoides y fenoles por lo que se recomienda realizar estudios in vitro e in vivo con el objetivo de establecer la seguridad del mismo y otras posibles aplicaciones.

Palabras clave: <INFLAMACIÓN>, <EXTRACTO>, <*Ageratum conyzoides*> <FLAVONOIDES>, <COMPUESTOS FENOLICOS>, <CARRAGENINA>, <EDEMA SUPLANTAR>.

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por
LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN):
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE INFORMACION-
EIBICE, +QUITO,
serialNumber=000021485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2022.04.11 16:48:20 -05'00'



0653-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The aim of the research was to evaluate the anti-inflammatory effect of a gel made from the hydroalcoholic extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* in experimental animals, using carragenan-induced paw edema experimental model, for which the plant material was collected, identified, selected, dried and crushed, for the determination of the quality parameters of the crude drug. Subsequently, the ethereal, ethanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts were obtained by maceration to carry out the phytochemical screening, in order to identify secondary metabolites present in the plant species. The hydroalcoholic extract was concentrated and lyophilized, after that, by means of UVVisible spectrophotometry, flavonic and phenolic compounds present in it were quantitatively analyzed. Gels were made with the hydroalcoholic extract at concentrations of 5%, 10% and 20% with good organoleptic characteristics. In addition, the antiinflammatory effect of the gels was evaluated in experimental animals in which inflammation was induced by administering 0.1% carragenan in the plantar area. The area of inflammation was measured in millimeters. The values obtained were essential to find the percentage of inflammation at different measurement times. Statistical analysis of variance and Tukey's test were then applied to determine the significant difference among the applied treatments. It was obtained as a result that the gel based on hydroalcoholic extract of *Ageratum conyzoides* at 20% showed greater anti-inflammatory efficacy, statistically similar to diclofenac sodium 1%. It was concluded that the gels made with the extract of *Ageratum conyzoides* have a high anti-inflammatory efficacy due to the presence of flavonoids and phenols, so it is recommended to carry out in vitro and in vivo studies in order to establish its safety and other possible applications.

Keywords: <INFLAMMATION>, <EXTRACT>, <*Ageratum conyzoides*>, <FLAVONOIDS>, <PHENOLIC COMPOUNDS>, <CARRAGEENAN>, <PAW EDEMA>.

EDISON
HERNAN
SALAZAR
CALDER
ON

Firmado digitalmente por EDISON HERNAN SALAZAR CALDERON
Fecha: 2022.04.21 12:28:20 -05'00'

INTRODUCCIÓN

La inflamación es una respuesta de defensa de los organismos a diferentes agresiones endógenas o exógenas causadas por agentes químicos, físicos y/o biológicos. Este proceso complejo se presenta como respuesta tanto a infecciones como a una diversidad de estímulos generadores de lesión tisular (traumáticos, tóxicos, isquémicos, autoinmunes, etc.) (González-Costa y González 2019, p.32; Vega 2008, p.220).

La reacción inflamatoria se caracteriza por presentar dolor, rubor, tumor y calor, acompañada de la incapacidad funcional del tejido afectado. El proceso inflamatorio se clasifica en agudo o crónico. El proceso agudo, también conocido como reacción de fase aguda, puede ser local o sistémico (Alvarado 2015, p.3; González-Costa y González 2019 p.32).

Actualmente la ciencia se enfoca en la búsqueda de nuevos principios activos con alto potencial antiinflamatorio, lo cual ha generado un sinnúmero de investigaciones con el objetivo de aislar moléculas con alta eficacia y mayor seguridad en la farmacoterapia. Existen varios estudios enfocados en *A. conyzoides* L., mismos que indican que esta planta posee propiedades antiinflamatorias.

En el artículo de investigación de Rahman et al., (2012, pp.1469-1476) titulado “Analgesic and anti-inflammatory effect of whole *Ageratum conyzoides* and *Emilia sonchifolia* alcoholic extracts in animal models” indica que se evaluó la actividad analgésica y el efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *A. conyzoides* y *E. sonchifolia*.

El ensayo de efecto analgésico con los extractos mostró una respuesta inhibitoria significativa al dolor en el ensayo de retorcimiento inducido por ácido acético y formalina en ratones, los extractos también mostraron una acción antiinflamatoria dependiente del tiempo en el edema plantar inducido por carragenina en ratones.

Por otra parte Bahtiar (2017, p.270-277) en su investigación titulada “Ethanollic extracts of babandotan leaves (*Ageratum conyzoides* L.) prevents inflammation and proteoglycan degradation by inhibiting TNF- α and MMP-9 on osteoarthritis rats induced by monosodium iodoacetate” evaluó el efecto de los extractos de *A. conyzoides* en TNF- α y MMP-9 que controlan la inflamación y degradación del proteoglicano en la osteoartritis (OA).

Tras varios análisis, el estudio mostró que el extracto de hojas de *A. conyzoides* puede inhibir el proceso de OA significativamente en ratas modelo de yodoacetato de sodio en comparación con el grupo de control negativo.

En el Ecuador existe gran variedad de plantas que presentan propiedades curativas, en la literatura científica se encuentran reportes de usos tradicionales de *A. conyzoides*, misma que es conocida y utilizada en la serranía ecuatoriana por su poder antiinflamatorio natural. En la actualidad la búsqueda de agentes naturales efectivos con baja toxicidad y mejor efectividad tiene un

importante interés científico y farmacológico, por lo que las plantas y sus derivados son opciones terapéuticas muy importantes.

Los antiinflamatorios más usados hoy en día son los medicamentos antiinflamatorios no esteroide (AINE's) y corticoides, mismos que presentan una alta eficacia, pero también ciertos efectos adversos, sobre todo gastrointestinales. Desde un punto de vista epidemiológico los problemas de inflamación se presentan a toda edad y en los dos géneros, tomando en cuenta la epidemiología de la inflamación, así como las reacciones adversas de los medicamentos antiinflamatorios obtenidos por síntesis, se pretende dar una nueva alternativa para atender esta afección y poder reemplazar a estos fármacos que son de prescripción común e incluso de venta libre por medicamentos de origen natural (Rubio 2015, p.1).

Considerando el uso ancestral y la menor cantidad de efectos secundarios de plantas medicinales se propone elaborar un gel con extractos de *A. conyzoides* y probar su efectividad *in vivo*. Esta investigación está enfocada al beneficio de la población en general, principalmente para aquellos pacientes que utilizan los medicamentos AINE's durante largos periodos de tiempo, recalcando que estos productos presentan una mayor aceptación por parte de la población y tienen un menor costo.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la actividad antiinflamatoria *in vivo* de un gel a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. en ratones *Mus musculus*

Objetivos específicos

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de *A. conyzoides* mediante un tamizaje fitoquímico
- Elaborar geles a diferentes concentraciones a base de los extractos hidroalcohólicos de *A. conyzoides* L.
- Evidenciar el efecto antiinflamatorio de los geles elaborados con extractos de *A. conyzoides* L. en ratones *Mus musculus* con edema suplantario inducido.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Familia Asteraceae

La familia *Asteraceae* o también conocida como *Compositae*, constituye el grupo vegetal más diverso de plantas vasculares sobre todo el planeta, considerada como una de las familias más comunes en la mayoría de hábitats. Se estima aproximadamente entre 1,500 y 1,700 géneros y entre 24,000 y 30,000 especies (García et al.. 2014 pp. 98-99).

La familia *Asteraceae* incrementa su riqueza en lugares con mayor altitud como en el páramo, sin embargo, disminuye la misma en áreas restringidas a formaciones vegetales específicas, como los bofedales, aun así, no deja de ser una de las familias más diversas del planeta (González 2015, p.100). Su nombre tiene origen etimológico, proviene del término latino “aster” que significa “estrella”, término publicado por Linneo en su obra magna denominada *Species plantarum* (Villaseñor 2018, p. 333; Alvarez 2018, p.7). Este grupo natural es fácilmente reconocido por sus inflorescencias dispuestas en cabezuela que semeja a una flor (pseudantio) que en realidad son muchas o pocas flores. En el Ecuador existen alrededor de 160 géneros, en los bosques andinos y páramos se ha registrado 44 géneros nativos (García et al.. 2014; Alvarez 2018, pp. 7-8)

1.1.1. Genero *Ageratum*

El nombre genérico *Ageratum* es un término griego que significa “no viejo” (Aguirre et al.. 2019, p.49). Son plantas pertenecientes a la familia Asteraceae, con flores pomposas a manera de sombrillas pequeñas y de colores que varían desde azul- lavanda, lila, rosa y blanco. Son plantas herbáceas anuales o perennes nativas de América (Faqueti et al.. 2016, p.369). *Ageratum* consiste de aproximadamente 30 especies, pero solo algunas de ellas han sido estudiadas desde un punto de vista fitoquímico (Mesa et al.. 2015, p.2).

1.1.2. *Ageratum conyzoides*

La nomenclatura de *Ageratum conyzoides* proviene de dos palabras griegas, *Ageratum* que significa “no viejo”, en alusión a las flores de esta especie que mantienen el color por un largo tiempo y *Conyza*; *konops*= “pulga”, o *konis*= “polvo”, que hace referencia al polvo de la planta seca usado como repelente de insectos (Aguirre et al.. 2019, p. 49; Alvarez 2018, p. 9).



Figura 1-1: *Ageratum conyzoides*

Fuente: (Aguirre et al. 2019, p. 49).

1.1.2.1. Nombres comunes

Ageratum conyzoides, conocido normalmente como “manrubio blanco o morado, borraja de campo, chuva, flor noble, mejorana, mestraso, mozotillo, celestina, flor azul, hierva de chivo, caángay, flor noble o retentina” (Mesa et al. 2015, p. 2; Medina Caiminagua 2015, p. 28; Hurrell 2017, p. 247)

1.1.2.2. Ubicación taxonómica

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Tribu: Eupatorieae

Género: *Ageratum*

Especie: *Ageratum conyzoides* L. 1753 (Ariza y Almanza 2012: p. 93).

1.1.2.3. Descripción botánica

Planta herbácea anual, de 0,2-1.50 m de altura, de raíz pivotante, tallo erecto o decumbente, ramificado y con pelos blancos y largos. Florece principalmente entre diciembre y abril. Las flores tienen alrededor de quince capullos de color blanco o liliáceo de 1,5 - 2,5 mm de longitud, al final de cada ramificación tiene pedúnculos cortos. Su fruto es un aquenio negro y brillante de

aproximadamente 1,2 mm de longitud (Santos 2004, p. 22; Santos et al. 2016, p.2;Hurrell 2017, p. 247).

Las hojas son ovaladas, delgadas y membranosas con peciolo largo, ápice obtuso, base acuminada, simples y opuestas con tres principales nervaduras, de color verde claro. poseen pelos largos y blancos en ambas superficies, con márgenes dentados (Santos 2004, p. 22; Aguirre et al. 2019, p. 49).

1.1.2.4. Hábitat

Es originaria de Centroamérica y del Caribe. Se encuentra a nivel mundial, particularmente en el suroeste de Asia, India, China, Indonesia, Corea y Japón, también es muy común en países de Suramérica (López et al. 2018, p. 3; Mesa et al. 2015, p. 2). Crece en zonas húmedas tanto ácidas como básicas, comúnmente en cultivos, rastrojos e incluso en caminos. Se la encuentra con mayor frecuencia en alturas menores de 900 m.s.n.m. (Santos 2004, p. 22; Mesa et al. 2015, p. 2).

1.1.2.5. Composición química

La planta *A. conyzoides* posee numerosos componentes con actividad terapéutica y biológica tales como monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, cromenos, benzofuranos, cumarinas, esteroides, flavonoides, fenoles, alcaloides, glucósido cianogénico, y otros compuestos (Mesa et al. 2015, p. 2; Valverde 2015, pp. 5-6). El aceite esencial de esta planta contiene cumarina, 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol; 3,3,6-trimetil-1,5-heptadien-4-ona; 4-trimetil-3-ciclohexen-1-metanol; 4,6,6-trimetil-biciclo[3.1.1]hept-3-en-2-ona; 3-metil-(1-metiletenil)-2-ciclohexen-1-ona; 2,3,5,6-tetrametil-p-benzoquinona; eugenol; 4,11,11-trimetil-8-metilen-bicyclo[7.2.0]undec-4-eno; ciclooctanocarboxaldehído; 1,2,3,4,4a,7,8,8^a-octahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-1-naftalenol; nerolidol 1; oxido de cariofileno y otros en menor cantidad (Alvarez 2018, p. 10; Valverde 2015, p. 27). En el estudio titulado “Composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador” se evidencia que el aceite esencial de *A. conyzoides* contiene: 1-octen-3-ol (6,38%), linalol (6,90%), cetona de artemisilo (16,38%), α -terpineol (2,03%), verbenona (12,76%), piperitona (8,08%), duroquinona (2,71%), eugenol (1,22%), (Z)-cariofileno (1,02 %), ciclooctanocarboxaldehido (3,28 %), τ cadinol (1,72 %), nerolidol 1 (2,67 %) y óxido de cariofileno (11,92 %) (D’Armas et al. 2017, p. 10).

1.1.2.6. Usos farmacológicos

A. conyzoides es una planta con una larga historia en la medicina tradicional ha sido usada para tratar diferentes afecciones tales como gases estomacales, antirreumática, en ciertos casos

diurética, emenagogo, antidiarreico, carminativo, purgante, vermífugo, antiespasmódico, febrífugo, antimalárica, entre otros. *A. conyzoides* tiene efectos analgésico, antiinflamatorio y antimicrobiano. Las hojas, flores y tallos son usados como antiasmáticas, estimulantes o carminativas, su infusión es usada para tratar la fiebre y dolor de cabeza ((Aguirre et al.. 2019, p. 49; Medina 2015, p. 29).

En Asia se ha utilizado para tratar la lepra y la oftalmía purulenta, su decocción es usada en casos de diarrea, disentería, reumatismo y dolor asociado al ombligo en niños. En ciertos países de África *A. conyzoides* ha sido utilizada para curar enfermedades de la piel, cicatrizar heridas, dolores de cabeza, retraso mental, asma y problemas del útero, mientras que en África central se ha utilizado para tratar problemas como neumonía, heridas y quemaduras.

En América del Sur es empleada principalmente para tratar reumatismo, fiebre, cólicos y diarrea. En Brasil es empleada en un té medicinal utilizado como analgésico, antiinflamatorio, antidiarreico y como remedio para enfermedades ginecológicas. En Ecuador el conocimiento etnobotánico relata que *A. conyzoides* es usado como antifatulento y antiinflamatorio en el tratamiento de heridas y afecciones de la piel (Rahman et al. 2012, p. 1470; Alvarez 2018, p. 10).

1.2. Inflamación

La inflamación es una respuesta del organismo frente a una agresión o daño celular por parte de agentes exógenos o endógenos que tiene como finalidad eliminar y reparar el tejido dañado. (Caelles 2017; Ríos y Rodríguez 2013, p. 11). Se ha considerado clásicamente integrada por los cuatro signos de Celso: calor, dolor, rubor y tumor. El calor y rubor se ven reflejados por alteraciones vasculares debido a una acumulación sanguínea en el foco; mientras que el tumor es producido por el edema y acumulación de células inmunes y el dolor se produce por la actuación de ciertos mediadores de la inflamación sobre las terminaciones nerviosas del foco (Bordés et al. 1990).

1.2.1. Causas

- **Agentes biológicos:** bacterias, virus, parásitos, hongos.
- **Agentes físicos:** radiaciones, calor, quemaduras, frío y objetos relacionados con traumatismo
- **Agentes químicos:** venenos, toxinas, productos industriales, consabidos ácidos, álcalis y medicamentos.
- **Alteraciones inmunitarias:** reacciones de hipersensibilidad (Vega 2008 p. 220; Ríos y Rodríguez 2013, p. 12).

1.2.2. Etapas de la inflamación

El proceso inflamatorio como respuesta fisiológica posee cinco etapas:

1.2.2.1. Liberación de mediadores

Los mediadores de la inflamación son moléculas producidas por diferentes células del sistema inmune y por activación de sistemas enzimáticos (Bordés et al. 1990).

1.2.2.2. Efecto de los mediadores

Una vez que estas moléculas son liberadas van a producir efectos quimiotácticos y alteraciones a nivel vascular que favorecerán la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

1.2.2.3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio

Los mediadores inicialmente producen alteraciones vasculares que facilitan la llegada de moléculas desde la sangre hasta el foco de infección. Luego de esto se liberan factores quimiotácticos que ayudan a la llegada de células inmunes provenientes de la sangre y tejidos.

1.2.2.4. Regulación del proceso inflamatorio

En esta cuarta etapa el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores inclinados a finalizar o equilibrar el proceso con el fin de evitar una respuesta inmune exagerada (Bordés et al. 1990; Alvarez 2018, pp. 11-15).

1.2.2.5. Reparación

Varios fenómenos van a intervenir en la reparación ya sea parcial o total del tejido dañado por el agente agresor causal de la lesión que ha sido eliminado o destruido (Bordés González et al. 1990).

1.2.3. Tipos de inflamación

1.2.3.1. Por su duración

- *Inflamación aguda:* comienza en minutos u horas posteriores a que el organismo se

encuentra con un estímulo dañino. Se caracteriza por la presencia de vasodilatación, edema, acentuada permeabilidad e infiltración de neutrófilos. La presencia de pus en la dermis es un signo característico de este tipo de inflamación, dando paso a una inflamación crónica (Vega 2008, pp. 220-221; Zamora et al. 2017, p. 6).

- *Inflamación crónica:* ocurre en días, semanas e incluso meses cuando no se ha eliminado la noxa. Se caracteriza por un daño a las células con la simultánea destrucción y cura del tejido dañado. Durante este proceso se activa la ciclooxigenasa (COX) encargada de producir prostaglandinas (PG), responsables del edema, fiebre y dolor (Zamora et al. 2017, p. 6; González-Costa y González 2019, p. 32).

1.2.3.2. Por el carácter del exudado

- *Trasudado:* caracterizado por presentar líquido extravascular con bajo contenido proteico, este es producto de un ligero cambio en la permeabilidad vascular.
- *Exudado:* presencia de líquido extravascular inflamatorio con alto contenido proteico (Villalba 2014, p. 2262).

1.2.3.3. Por su etiología

- *Infeciosas:* el agente causal son virus, parásitos, bacterias o toxinas microbianas.
- *Traumáticas:* se producen por golpes intensos con una respuesta inmediata o tardía como ocurre con los esguinces.
- *Térmicas:* son producto de una quemadura con calor o congelamiento.
- *Inmunitarias o reacciones de hipersensibilidad:* producidas por alérgenos comunes o por procesos colagenopáticos.
- *Otras:* irradiaciones, exposición, necrosis tisular, presencia de cuerpos extraños como astillas (Villalba 2014, p. 2263; Alvarez 2018, p. 16).

1.2.3.4. Por sus características morfológicas

- *Serosa:* acúmulo de líquido tisular de bajo contenido proteico.
- *Fibrinosa:* presencia de exudado con gran cantidad de fibrinógeno.
- *Purulenta:* caracterizada por la producción de exudados purulentos.
- *Abscesos:* existe tejido inflamatorio purulento acompañado de necrosis licuefactiva.
- *Úlceras:* producidas por esfacelamiento de tejido necrótico inflamado (Villalba 2014, p.2263).

1.3. Fármacos antiinflamatorios

1.3.1. Antiinflamatorios esteroides

Son corticoides naturales (hormonas de la corteza adrenal) o semisintéticos, estos últimos poseen estructuras y actividad farmacológica similar a los naturales, aunque en general son más potentes. El efecto antiinflamatorio de estos fármacos está vinculado íntimamente a la acción inmunosupresora por lo que su uso es limitado. (Divins 2014, p. 19; Ríos y Rodríguez 2013, p. 18).

1.3.2. Antiinflamatorios no esteroides (AINE's)

Tienen propiedades antiinflamatorias, actúan también como analgésicos y antipiréticos. Son inhibidores de las prostaglandinas específicamente de la COX-1 y COX-2. El bloqueo de la COX-1 parece ser responsable de los efectos secundarios gastrointestinales, plaquetarios y renales; mientras que el bloqueo de la COX-2 sin inhibir la COX-1 se consigue un efecto antiinflamatorio (Garrote y Bonet 2003, p. 56; Divins 2014, p. 19; Ríos y Rodríguez 2013, p. 18).

1.3.2.1. Clasificación de los AINE's

Tabla 1-1: Clasificación de los AINE's según su selectividad por la enzima ciclooxigenasa

NO SELECTIVOS (COX-1 Y 2)	SELECTIVOS (COX-2)
Ácido acetilsalicílico	Rofecoxib
Acetaminofén	Valdecoxib
Indometacina	Parecoxib
Ibuprofeno	Celecoxib
Naproxeno	Etericoxib
Sulindad	Lumiracoxib
Diclofenaco	
Piroxicam	
β - piroxicam	
Meloxicam	
Cetoprofeno	

Fuente: (Batlouni 2010, p.538).

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

1.3.2.2. Mecanismo de acción

Los AINE's en su absorción y en su primer paso hepático se unen a la albúmina fuertemente.

Actúan en la inhibición de la ciclooxigenasa (COX) para así evitar la producción de prostaglandinas (PG), que actúan como mediadores de la inflamación a nivel central y periférico. Inhiben la prostaglandina-sintetasa lo cual afecta a la transformación del ácido araquidónico en PG, prostaciclina y tromboxanos. Existen dos formas de la enzima COX: COX-1 y COX-2 (Gómez et al. 2010, p. 641).

Ambas enzimas tienen el mismo peso molecular y sus estructuras químicas son casi semejantes ya que varía un solo aminoácido de forma que los lugares para la unión al ácido araquidónico (sustrato) o a los AINE's (inhibidor) son similares, sin embargo, el papel fisiológico es muy distinto (Muriel et al. 2006, pp. 6-7).

En el caso de la COX-1 es la encargada de la formación de PG y tromboxanos en las funciones fisiológicas, también de regular procesos de protección gástrica, función renal, agregación plaquetaria y homeostasis vascular. Es por esto que su inhibición puede provocar efectos secundarios a estos niveles (Gómez et al. 2010, p. 469; Alvarez 2018, p.18).

La COX-2 es una enzima que solamente se la detecta en procesos inflamatorios. Esta enzima actúa en la inflamación inducida por citoquinas y mediadores. Su expresión se inhibe por todos los AINE's y por ciertos corticoides (Gómez et al. 2010, p. 469).

1.4. Compuestos antiinflamatorios de origen natural

Las plantas medicinales con actividad antiinflamatoria son consideradas como terapia alternativa, ya que han mostrado tener cierta eficacia y presentar menos efectos secundarios. Las plantas contienen flavonoides, compuestos polifenólicos con efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, antivirales, antioxidantes, etc. que inhiben enzimas como la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, radicales libres y reducen el estrés oxidativo.

Esta diversidad de compuestos fitoquímicos y sus funciones biológicas permiten obtener una actividad farmacoterapéutica potenciada (sinergismo) o reducida, favoreciendo los fenoles y los flavonoides a una actividad antiinflamatoria significativa (Enciso y Arroyo 2011, p. 232; Alvarez 2018, p. 19).

1.4.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son compuestos químicos que se encuentran distribuidos en frutas y vegetales. Poseen estructuras moleculares que contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo. El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes. Desde el punto de vista químico es un grupo muy amplio y diverso que comprende moléculas como ácidos fenólicos, taninos condensados, alcoholes fenólicos, estilbenos, lignanos, flavonoides entre otros (Jordá 2015, p. 46; Peñarrieta et al.

2014, p.68).

En las plantas, los compuestos fenólicos son biosintetizados principalmente por dos rutas: la ruta del ácido shikímico responsable de la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina), ácido cinámico y sus derivados como fenoles simples, ácidos fenólicos, cumarinas y derivados del fenilpropano y la ruta de los poliacetatos que producen quinonas y xantonas (Alvarez 2018, p. 20).

1.4.2. Flavonoides

El término flavonoides denota a un grupo de compuestos polifenólicos bastante amplio, se caracterizan por una estructura benzo- γ -pirano, se encuentran distribuidos en el reino vegetal. Son conocidos como pigmentos naturales y también por proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como rayos ultravioletas y sustancias químicas de ciertos alimentos, etc. (Martínez et al. 2002, p. 271; Trueba 2003, p. 48-49).

Químicamente, son estructuras de naturaleza fenólica caracterizados por poseer dos anillos aromáticos de benceno unidos por un puente de tres átomos de carbono los cuales pueden o no formar un tercer anillo (Cartaya y Reynaldo 2001, p. 5).

Los compuestos de mayor trascendencia dentro de este grupo son los flavonoles, antocianinas, flavonas e isoflavonas. Estos compuestos inhiben gran variedad de enzimas como la COX, poseen capacidad antioxidante y antiinflamatoria principalmente, motivo por el cual han sido estudiados (Enciso y Arroyo 2011, p.232).

1.5. Geles

Los geles son formas farmacéuticas semisólidas formadas por un solvente espesado mediante la adición de sustancias de naturaleza coloidal como polímeros gelificantes. La USP define a los geles como sistemas dispersos que pueden ser suspensiones compuestas por pequeñas partículas inorgánicas o moléculas orgánicas grandes interpenetradas en un líquido (De Diego y Del Arco 2005, p.2).

1.5.1. Ventajas y desventajas

1.5.1.1. Ventajas

- Son bien tolerados en el lugar de aplicación ya que la mayoría están constituidos por agua, que es inocua e inerte.
- Fácil de eliminar, son lavables.

- Dan una sensación de frescor.

1.5.1.2. Desventajas

- Tienen tendencia a la desecación
- Presentan incompatibilidades con muchos principios activos.
- Bajo poder de penetración (Méndez 2008, p. 14; De Diego y Del Arco 2005, p. 2).

1.5.2. Tipos de geles

Existen dos clases de geles:

1.5.2.1. Geles Hidrófobos

Conocidos como oleogeles, por lo general la base de estos geles consiste en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con sílica coloidal o jabones de aluminio o zinc, son vehículos oleosos oclusivos, aptos para el tratamiento de dermatosis crónica (Ríos y Rodríguez 2013, p. 19; Méndez 2008, p. 15).

1.5.2.2. Geles hidrófilos

También se los conoce como hidrogeles, son materiales poliméricos entrecruzados en forma de red tridimensional de origen natural o sintético que al entrar en contacto con el agua, propilenglicol o glicerol se hinchan formando una especie de material blando y elástico. Estos pueden ser gelificados con agentes gelificantes como tragacanto, almidón, carbómero, derivados de la celulosa, silicatos de magnesio y aluminio (Cajas 2013, p. 10; Ríos y Rodríguez 2013, p. 19).

1.6. Experimentación animal

La experimentación animal es una actividad que tiene como propósito realizar intervenciones en animales para evidenciar o aclarar fenómenos biológicos aportando al conocimiento científico (Boada et al. 2007, p. 3-4).

1.6.1. Animales de experimentación

Un animal de experimentación es definido como una especie cuya calidad genética y ambiental ha sido controlada y asegurada y, por tanto, es capaz de dar una respuesta fiable y reproducible a

la pregunta experimental. Ejemplo de estas especies son: el ratón, el hámster, el conejo, el perro, el mono, entre otros (Cardozo et al. 2007, p. 21).

El animal de laboratorio tiene que ser respetado como un ser vivo. Su marco ético plantea que es obligación del personal que los cuida, mantiene y utiliza (investigador) asegurar su estado de salud física y mental en sincronía con el ambiente, libre de hambre, sed y malnutrición; miedo, ansiedad y angustia; libre de incomodidad física, frío y calor (Romero et al. 2016, pp. 289-290).

1.6.2. *Mus musculus*

Mus musculus L. es un mamífero doméstico de sangre caliente, una especie de roedor pequeño, que se desenvuelve con mayor facilidad. No sobrepasa los 21 cm de largo total, la longitud de la cola es similar a la de la cabeza y cuerpo y aparentemente desnuda, pero con finas vellosidades. El hocico es ligeramente alargado y puntiagudo, los pies posteriores son en general angostos y los dedos externos tienden a ser más cortos. Las hembras tienen 10 o 12 mamas, poseen dos incisivos superiores y dos inferiores, pero carecen de caninos y premolares anteriores. El color puede variar desde blanco hasta café o negro y tienen una vida útil de 10 a 12 meses (Romero y Medellín 2005, pp. 1-2).

1.6.2.1. Información taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *Mus musculus* L.

Nombre común: Ratón doméstico (Romero y Medellín 2005, p. 1).

1.6.2.2. Ventajas del uso de *Mus musculus* como animales de laboratorio

- Fácil cuidado y mantenimiento debido a su tamaño pequeño.
- Bajo costo de manutención
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- Por su corta vida, es excelente para su uso en ensayos de farmacología, toxicología, microbiología, entre otros (Fuentes Paredes et al. 2008, pp. 7-8).

1.6.3. Manejo y cuidado de ratones

El mantenimiento de los animales en buen estado de salud, depende en su mayoría del personal que los cuide y su forma de trabajo para mantener barreras sanitarias con continuidad en el tiempo. En la cuarentena el ratón tiene que mantenerse por un tiempo en adaptación desde que fue adquirido hasta su uso. Este periodo no es menor a 15 días. La finalidad de esto es tener ratones menos estresados y más sanos para obtener un mejor resultado experimental.

Los animales deben recibir alimento en cantidad y calidad suficiente para satisfacer sus necesidades. El acceso al alimento debe ser libre y dosificado de acuerdo a los requerimientos necesarios, el alimento se suministra a diario y este se incrementará en caso de ser necesario.

El agua debe ser renovada en forma total, diariamente o al menos cada dos días. Los frascos de las bebidas deben ser lavados y desinfectados por lo menos una vez a la semana (Fuentes et al. 2008, pp. 33-34).

Para comenzar con la técnica de manipulación de ratones se debe realizar un acercamiento suave a los animales, la forma más utilizada para manipulación de ratones adultos y crías es levantar al animal tomándolo desde la base de la cola, lo más distalmente posible del punto medio con los dedos pulgar e índice, sin ejercer demasiada presión; hay que colocarlo de inmediato en la superficie deseada, o bien darle apoyo en la palma de la mano hasta trasladarlo al lugar definitivo. Una vez sujeto el animal por la parte proximal de la cola, se debe colocar sobre una superficie rugosa donde se pueda sujetar con sus patas delanteras, con la otra mano se toma la piel del dorso inmediatamente detrás de las orejas con los dedos índice y pulgar, sin ejercer demasiada presión, pero firme. Tomar suficiente piel para inmovilizar al animal (Mourelle et al. 2013, pp. 43-44).

1.7. Métodos para estudiar el material vegetal

1.7.1. Determinación de los parámetros de control de calidad de la droga cruda

1.7.1.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad en la droga cruda es un parámetro muy importante como indicador de estabilidad. La presencia de un elevado contenido de agua facilita el crecimiento rápido de hongos y microorganismos que causan el deterioro de la materia vegetal, así como el riesgo de hidrólisis de los metabolitos secundarios presentes en la droga (Monsalve et al. 2011, p. 33).

1.7.1.2. Determinación de cenizas totales

El método de cenizas totales está diseñado para medir la cantidad total de materia inorgánica que queda después de la ignición. Esto incluye tanto las “cenizas fisiológicas”, que proceden del tejido mismo de la materia vegetal, como a las “cenizas no fisiológicas”, que son el residuo de la materia extraña (tierra y arena) adherida a la superficie de la planta (Villacrés 2017, p.16).

1.7.1.3. Determinación de cenizas solubles en agua

Este ensayo tiene como finalidad determinar de manera cuantitativa la cantidad de materia inorgánica existentes en las cenizas totales.

1.7.1.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

La finalidad de este ensayo es determinar el contenido de sustancias minerales insolubles en ácido clorhídrico que contiene la materia vegetal (Álvarez 2018, pp. 30-31).

1.7.2. Preparación de los extractos de *A. conyzoides*

1.7.2.1. Método de extracción por maceración

Consiste en poner en contacto la materia vegetal seca y triturada con el disolvente usado (generalmente agua glicerina o mezclas hidroalcohólicas) para la extracción a temperatura ambiente y en un lugar fresco y oscuro, manteniéndolo en agitación durante un tiempo determinado que depende de las características de la droga y de la naturaleza de los principios activos. Luego se decanta el conjunto separando el extracto líquido que contiene los principios activos y por otra parte el residuo de la droga denominado marco (Ríos y Rodríguez 2013, p. 25).

1.7.3. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o conocido como “screening”, permite identificar distintos metabolitos primarios y secundarios presentes en la droga vegetal de manera cualitativa mediante reacciones rápidas, sensibles y sencillas (Alvarez 2018, p. 32).

- *Ensayo de Sudán:* determina la presencia de compuestos grasos.

- *Ensayo de Dragendorff*: determina la presencia de alcaloides.
- *Ensayo de Mayer*: determina la presencia de alcaloides.
- *Ensayo de Wagner*: determina la presencia de alcaloides.
- *Ensayo de Baljet*: determina la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, especialmente cumarinas.
- *Ensayo de Liebermann-Burchard*: determina la presencia de triterpenos y/o esteroides.
- *Ensayo de catequinas*: determina la presencia de catequinas.
- *Ensayo de resinas*: determina la presencia de resinas.
- *Ensayo de Fehling*: determina la presencia de azúcares reductores.
- *Ensayo de la espuma*: determina la presencia de saponinas, tanto de tipo esteroideal como triterpénica.
- *Ensayo del cloruro férrico*: determina la presencia de compuestos taninos y fenólicos.
- *Ensayo de Borntrager*: determina la presencia de quinonas.
- *Ensayo de la Ninhidrina*: identifica la presencia de aminoácidos libres/aminas.
- *Ensayo de Antocianidina*: permite reconocer la presencia de estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides.
- *Ensayo de Shinoda*: determina la presencia de flavonoides en el extracto vegetal.
- *Ensayo de Mucílagos*: permite reconocer en los extractos acuosos de vegetales la presencia de una estructura de tipo polisacárido, el cual forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua con la que se extrae.
- *Ensayos de principios amargos y astringentes*. (García et al. 2020, pp. 1209-1211; Álvarez 2018, pp. 35-40).

1.7.4. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

1.7.4.1. Determinación de las características organolépticas

Se evalúa el aspecto, color, olor y sabor del extracto.

1.7.4.2. Determinación de la densidad relativa

La densidad relativa se basa en la diferencia del peso de los picnómetros vacíos, con agua y con la sustancia a ensayar a 25°C (Pérez et al. 2016, p. 445).

1.7.4.3. Determinación de sólidos totales

Los sólidos totales son los residuos (incluidas sales inorgánicas) de la muestra que quedan en un recipiente luego de ser sometida a un proceso de evaporación y secado en una estufa a temperatura definida (Capasso et al. 2007, p. 42).

1.7.5. Cuantificación de fenoles totales y flavonoides

1.7.5.1. Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

El método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reaccionar con agentes oxidantes, el reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico que reaccionan con cualquier tipo de fenol, pasando de un color amarillo a un complejo de color azul intenso (Marina et al. 2008 p. 3).

1.7.5.2. Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico

Los flavonoides totales se miden a través de un ensayo colorimétrico de tricloruro de aluminio (Alvarez 2018, p. 52).

1.7.6. Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo

Para evaluar la actividad antiinflamatoria de los geles en ratones se usa la prueba de edema plantar inducido por carragenina propuesto por Winter. Este método consiste en la administración subcutánea o suplantar de una solución de carragenina a un nivel de la aponeurosis plantar del ratón, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (Ríos y Rodríguez 2013, p. 50).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de la investigación

Esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Productos Naturales, Tecnología Farmacéutica y el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Tipo y diseño de investigación

Este estudio es de tipo cuantitativo, correlacional y prospectivo; y el diseño de investigación es experimental, puesto que se basó en la determinación de la actividad antiinflamatoria de geles elaborados a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *A. conyzoides* L., aplicados en ratones con edema suplantar inducido por carragenina.

2.3. Población, muestra y/ muestreo

La población de estudio fueron las hojas de *A. conyzoides* L. La recolección del material vegetal se realizó en la provincia de Chimborazo, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 1000 g de la especie vegetal *A. conyzoides* L.

2.4. Variables

2.4.1. Variable Independiente

Concentración del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L: 5%, 10% y 20%

2.4.2. Variable dependiente

Eficacia antiinflamatoria: efecto del gel sobre la inflamación inducida por la carragenina en la pata posterior del ratón.

2.5. Hipótesis

H₀: “Ninguno de los tratamientos a diferentes concentraciones del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. presenta efecto antiinflamatorio en los animales del experimento”

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6$$

H_A: “Al menos uno de los tratamientos a diferentes concentraciones del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. presenta efecto antiinflamatorio en los animales del experimento”

$$H_A: T_1 \neq T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6$$

2.6. Materiales, equipos y reactivos

2.6.1. Material vegetal

Se utilizó las partes aéreas (hojas y flores) de la planta *A. conyzoides*. La recolección del material vegetal se realizó en la provincia de Chimborazo, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 1000 g de la especie vegetal. Para la recolección del material vegetal se tomó en cuenta los mejores especímenes vegetales con flores de color blanco o púrpura, hojas en excelente estado con bordes dentados, y ápice, no se recolectaron los que se observaron en mal estado o con daños causados por insectos, animales o factores físicos (sol, lluvia, viento), plantas en proceso de descomposición o con contaminación microbiana.

2.6.2. Material biológico

Se utilizó 36 ratones como animales de experimentación; con un peso entre 25-30 g, de aproximadamente dos meses de vida, especie *Mus musculus*, variedad albina (machos), con alimentación estándar.

2.6.3. Material farmacológico

Se utilizó diclofenaco 1,16% en gel como control positivo en el ensayo para determinar la actividad antiinflamatoria de los geles elaborados con extracto de *A. conyzoides*.

2.6.4. *Materiales de laboratorio*

Tabla 1-2: Descripción de los materiales de laboratorio usados

TÉCNICAS	MATERIALES
CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL	Crisoles de porcelana
	Reverbero
	Espátula
	Pinzas para crisol
	Desecador
TAMIZAJE FITOQUÍMICO	Papel filtro
	Frascos ámbar 250 mL
	Tubos de ensayo
	Pipetas Pasteur 1 mL
	Pipetas graduadas 5 y 10 mL
	Embudo simple
	Gradillas de tubos
	Reverbero
	Vasos de precipitación 150 y 250 mL
Papel filtro	
CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	Frasco ámbar 1 L
	Picnómetro
	Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
	Pipetas Pasteur
	Capsulas de porcelana
	Pinzas para capsulas
	Reverbero
	Probetas de 25 mL
	Vaso de precipitación de 50 mL
FORMULACIÓN DE GELES	Vasos de precipitación de 250 y 500 mL
	Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
	Varillas de agitación
	Probetas de 50 mL
	Jeringas de 10 mL
EVALUACIÓN ANTIINFLAMTORIA IN VIVO	Pie de rey
	Jeringas

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

2.6.5. Equipos

Tabla 2-2: Equipos utilizados en la investigación

ANÁLISIS	EQUIPOS
CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL Y TAMIZAJE FITOQUÍMICO	Molino Arthur H. Thomas C.O
	Estufa
	Mufla
	Balanza analítica
	Cámara de luz UV
	Cámara de flujo laminar
OBTENCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	Refractómetro
	pH-metro
	Rotavapor
ELABORACIÓN DEL GEL Y EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA IN VIVO	Balanza
	Pie de rey

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

2.6.6. Reactivos

Tabla 3-2: Reactivos utilizados en la investigación

ANÁLISIS	REACTIVOS
CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA	Agua destilada
	Ácido clorhídrico 10%
TAMIZAJE FITOQUÍMICO	Éter etílico
	Alcohol al 96%
	Agua destilada
	Reactivo Sudán III
	Ácido clorhídrico 1%
	Ácido clorhídrico concentrado
	Reactivo de Dragendorff
	Cloruro de sodio
	Reactivo de Mayer
	Reactivo de Wagner
	Reactivo de Baljet
	Cloroformo
	Anhidro acético
	Ácido sulfúrico concentrado
	Solución de carbonato de sodio
Reactivo de Fehling	

	Acetato de sodio
	Tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica
	Hidróxido de sodio 5%
	Solución de ninhidrina al 2%
	Alcohol amílico
	Magnesio metálico
FORMULACIÓN DEL GELES	Agua destilada
	Carbopol
	Glicerina
	Trietanolamina
EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA IN VIVO	Carragenina

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

2.7. Técnicas y métodos

2.7.1. *Recolección del material vegetal*

La especie vegetal *Ageratum conyzoides L.* se recolectó en la parroquia Achupallas, en el cantón Alausí, localizada específicamente en las coordenadas geográficas: Latitud (Y): -2.2827529907; Longitud (X): -78.7678909302 y Altitud: 3600 m.s.n.m.

2.7.2. *Preparación del material vegetal*

Se lava y se seca las hojas y flores en una estufa a 45°C de temperatura durante 24 horas, luego se tritura en un molino marca Arthur H, Tomas. C.O hasta obtener pequeñas partículas. La planta triturada se almacena en fundas ziploc® cerradas herméticamente.

2.7.3. *Determinación de los parámetros de control de calidad de la droga cruda*

Luego de recolectar y preparar la planta se realiza el control de calidad de la droga cruda, los ensayos se realizan por triplicado basados en pruebas físico-químicas para evaluar la calidad de la droga vegetal. A continuación, se describen todos los procedimientos que se realizaron según manuales de Farmacognosia y Productos Naturales (Alvarez 2018, p. 29).

2.7.3.1. *Determinación del contenido de humedad*

En una balanza analítica se pesa 2 g de la droga cruda, seca y molida con una desviación permisible de 0,5 mg en un crisol de porcelana previamente tarado y pesado. Se coloca el crisol

en la estufa a 105°C durante 3 horas y seguidamente en un desecador durante 15 minutos con el fin de dejar enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y pesar. Posteriormente se lleva el crisol a la estufa durante una hora, luego se coloca en el desecador para enfriarlo hasta temperatura ambiente y pesar. Se repite el proceso hasta llegar a un peso constante.

Para calcular el porcentaje de humedad presente en la droga cruda se aplica la siguiente ecuación:

$$H = \frac{M1 - M2}{M1 - M} * 100$$

En donde:

H: pérdida de peso por desecación.

M: masa del crisol vacío

M1: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: masa del crisol con la muestra de ensayo desecada (g)

100: factor matemático (Alvarez 2018, p. 29-30).

2.7.3.2. *Determinación de cenizas totales*

Se pesa 2 g ± 0,5 mg de droga cruda y molida en un crisol previamente tarado. Seguidamente se carboniza la muestra en un reverbero y posteriormente se incinera en una mufla a una temperatura de 750 °C durante 3 horas. Enfriar el crisol en el desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y pesar, se repite el proceso hasta alcanzar un peso constante (Fukalova 2017, p. 9).

Para calcular la cantidad de cenizas presentes se aplica la siguiente ecuación:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} * 100$$

En donde:

C: porcentaje de cenizas totales.

M: masa del crisol vacío (g)

M1: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: masa del crisol con la muestra de ensayo desecada (g)

100: factor matemático (Alvarez 2018, pp. 31-32; Fukalova 2017, p.10).

2.7.3.3. *Determinación de cenizas solubles en agua*

A las cenizas totales obtenidas en el procedimiento anterior, se le añade 15 mL de agua al crisol, se tapa con un vidrio reloj y se deja hervir durante 5 minutos. Posteriormente se filtra la solución por papel filtro libre de cenizas. El papel filtro con el residuo se coloca en el crisol utilizado

inicialmente y se carboniza en un reverbero, luego se coloca el crisol en la mufla a 750°C durante 2 horas. Se deja enfriar el crisol en el desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y pesar, se repite el proceso hasta alcanzar un peso constante.

Para calcular la cantidad de cenizas solubles en agua presentes en la droga se aplica la siguiente ecuación:

$$Ca = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} * 100$$

En donde:

Ca: porcentaje de cenizas solubles en agua.

M: masa del crisol vacío (g)

M1: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: masa del crisol con cenizas totales(g)

Ma: masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

100: factor matemático (Alvarez 2018, pp. 31-32; Fukalova 2017, p.10).

2.7.3.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A las cenizas totales obtenidas se añade 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. Se tapa el crisol con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 minutos. Seguidamente se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente añadiendo este volumen al crisol. Se filtra la solución a través de un papel filtro libre de cenizas; posteriormente se lava el residuo con agua caliente hasta que la solución filtrada acidulada con ácido nítrico indique la presencia de cloruros. Se seca el residuo en una estufa a 105°C y se traslada al crisol de porcelana usado inicialmente. Se coloca el crisol con la muestra en la mufla a 750°C durante 2 horas y luego en un desecador para enfriarlo hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa, repetir el proceso hasta alcanzar un peso constante.

Para realizar el cálculo y determinar el porcentaje de cenizas insoluble en ácido se emplea la siguiente ecuación:

$$B = \frac{M2 - M}{M1 - M} * 100$$

En donde:

B: porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

M: masa del crisol vacío (g)

M1: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido (g)

100: factor matemático (Alvarez 2018, pp. 31-32; Fukalova 2017, p.10).

2.7.4. Obtención de extractos

Las partes aéreas de la planta (flores y hojas) secas y molidas, se somete a extracciones consecutivas con solventes de polaridad creciente.

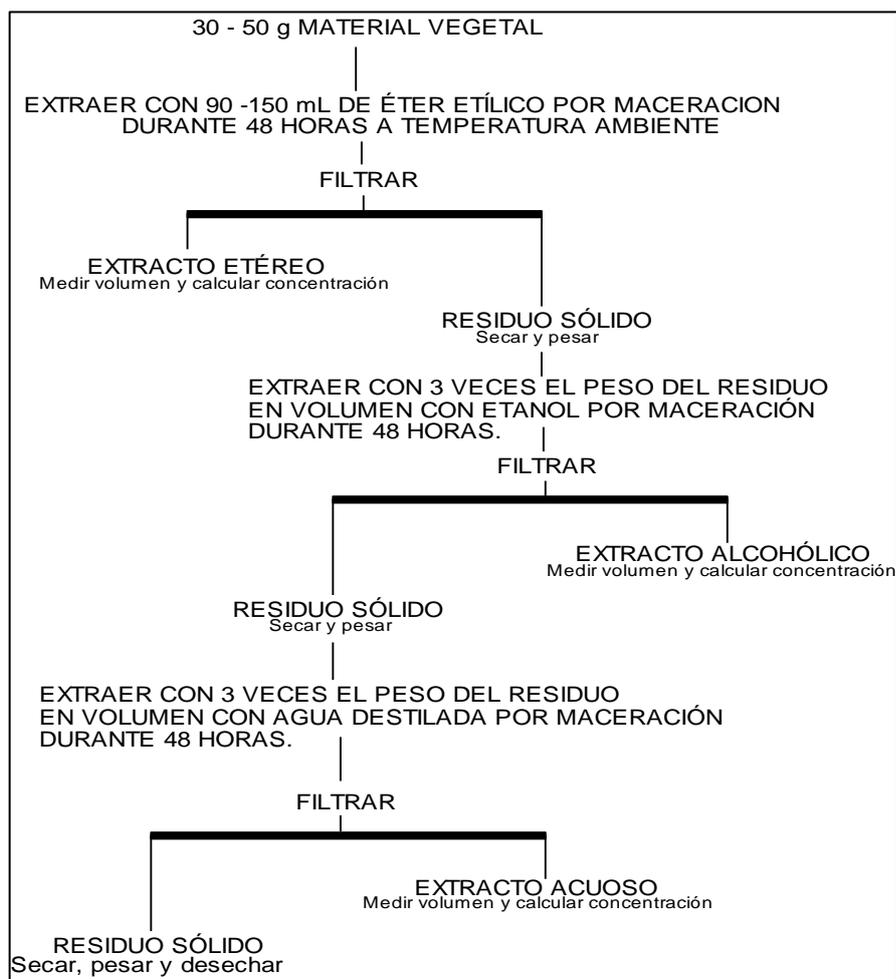


Figura 1-2: Protocolo para elaborar los extractos para el tamizaje fitoquímico

Fuente: (Miranda y Cuéllar 2001, p. 39).

2.7.5. Tamizaje fitoquímico

Una vez obtenidos los tres extractos se realiza cada una de las pruebas de identificación de metabolitos secundarios según se indica en las figuras 2, 3 y 4.

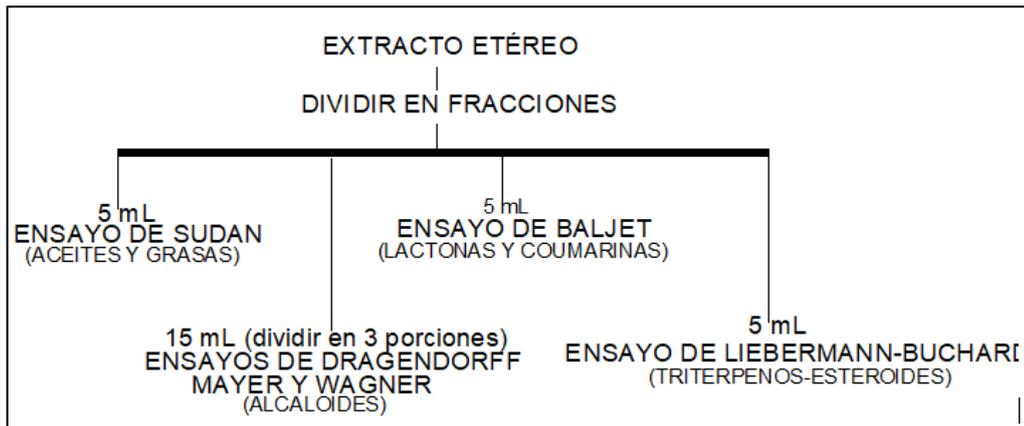


Figura 2-2: Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto etéreo.

Fuente: (Miranda y Cuéllar 2001, p. 40).

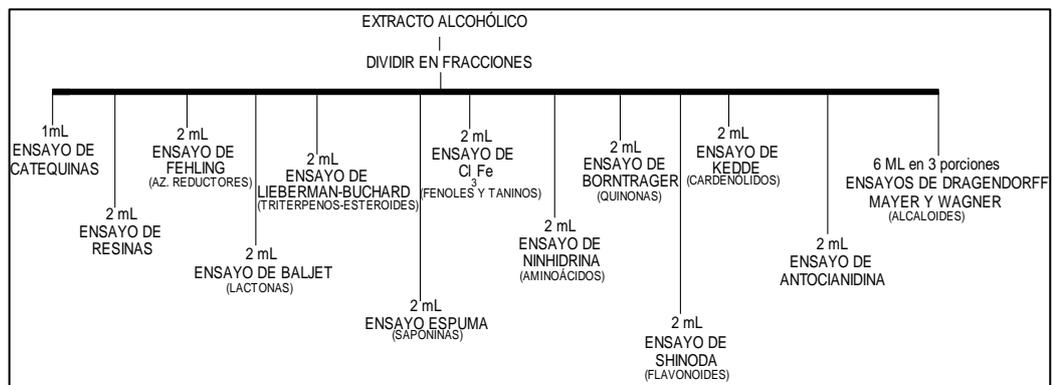


Figura 3-2: Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto alcohólico.

Fuente: (Miranda y Cuéllar 2001, p.40).

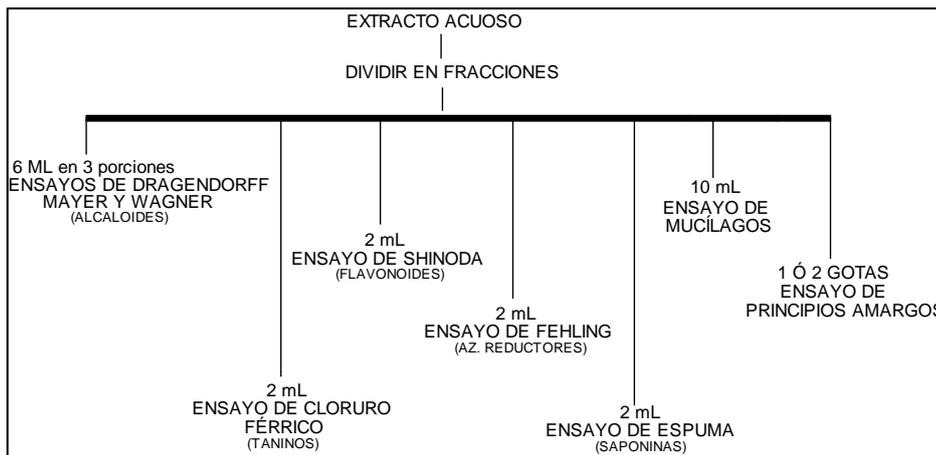


Figura 4-2: Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto acuoso.

Fuente: (Miranda y Cuéllar 2001, p.41).

2.7.5.1. Ensayo de Sudán

Mediante este ensayo se determina la presencia de compuestos grasos, para ello se coloca 5 mL del extracto en un tubo de ensayo y se adiciona 1 mL del reactivo de Sudán III ó Sudán IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. Se considera positivo si se observa gotas o una delgada capa de color rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo respectivamente (Alvarez 2018, p. 34).

2.7.5.2. Ensayo de Dragendorff

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello se toma una alícuota del extracto, si está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en un baño de agua y el residuo se disuelve en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% en agua, mientras que, si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, se añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++) (García et al. 2020, p. 1210).

2.7.5.3. Ensayo de Mayer

Mediante este ensayo se determina la presencia de alcaloides en el extracto. Se procede de la forma descrita anteriormente hasta obtener la solución ácida. Luego, se añade una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agita y se filtra. Posteriormente se añade 3 gotas de la solución reactiva de Mayer. El ensayo se considera positivo si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

Observación: en el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, solo se observarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias (Alvarez 2018, p. 35).

2.7.5.4. Ensayo de Wagner

Este ensayo permite identificar la presencia de alcaloides, Se procede de la forma descrita anteriormente hasta obtener la solución ácida. Luego se coloca 3 gotas del reactivo de Wagner. El ensayo se considera positivo si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++) (Rodríguez et al. 2020, p. 17).

2.7.5.5. Ensayo de Baljet

Este ensayo identifica compuestos con agrupamiento lactónico, especialmente cumarinas. Para lo cual se toma una alícuota del extracto, en caso de no estar disuelto en alcohol se evapora el solvente en un baño de agua caliente y el residuo se re disuelve en 1 mL de alcohol etílico. Posterior a esto se añade 1 mL del reactivo de Baljet. Este ensayo se considera positivo cuando aparece una coloración rojiza (++) o un precipitado rojo (+++) (Capasso et al. 2007, pp. 21-22).

2.7.5.6. Ensayo de Liebermann-Burchard

Mediante este ensayo se logra determinar triterpenos y/o esteroides. Para ello se toma una alícuota del extracto y se evapora hasta sequedad en un baño de agua hirviente. El residuo se re disuelve en 1 mL de cloroformo, se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se deja caer cuidadosamente 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. El ensayo se considera positivo si el cambio de coloración es rápido; de rosado a azul muy rápido (+++), a verde intenso visible rápido (++) , a verde oscuro-negro al final de la reacción (+) (García et al. 2020, p. 1211).

2.7.5.7. Ensayo de catequinas

Para este ensayo con ayuda de un capilar se coloca una gota del extracto etanólico sobre papel filtro y se adiciona una gota de solución de carbonato de sodio sobre la mancha del extracto en el papel filtro. Se considera que el ensayo es positivo cuando al observarse el papel filtro en una cámara UV se distingue una mancha de color verde carmelita.

2.7.5.8. Ensayo de resinas

A una alícuota del extracto etanólico se le adiciona 10 mL de agua destilada. El ensayo se considera positivo si se observa la aparición de precipitado (Álvarez 2018, p. 37).

2.7.5.9. Ensayo de Fehling

Este ensayo permite identificar la presencia de azúcares reductores en el extracto. Para esto en caso de no ser agua se evapora el solvente hasta sequedad y se re disuelve en agua. A una alícuota del extracto se adiciona 2 mL del reactivo de Fehling y se calienta en un baño de agua de 5 a 10 minutos. El ensayo se considera positivo si la solución toma una coloración roja o aparece un

precipitado rojo.

2.7.5.10. *Ensayo de la espuma*

Permite reconocer en el extracto acuoso la presencia de saponinas, tanto de tipo esterooidal como triterpénica. Para realizar este ensayo se toma 2 mL del extracto acuoso y se diluye con cinco veces su volumen en agua y se agita durante 10 minutos. Se considera positivo si aparece espuma de 2 mm de espesor y persiste como mínimo dos minutos (García et al. 2020, p. 1211).

2.7.5.11. *Ensayo del cloruro férrico*

Este ensayo permite identificar compuestos taninos y fenólicos tanto en el extracto acuoso y alcohólico. En el extracto acuoso se determina principalmente taninos, mientras que en el extracto alcohólico fenoles y taninos. Una alícuota del extracto se neutraliza con 3 gotas acetato de sodio (solo en el extracto acuoso). A continuación, se añade 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. El ensayo se es positivo si existe un cambio de coloración e indica los siguientes componentes:

- Coloración rojo-vino: compuestos fenólicos en general.
- Coloración verde intensa: taninos del tipo pirocatecólicos.
- Coloración azul: taninos del tipo pirogalotánicos (Rodríguez et al. 2020, p. 42; Alvarez 2018, pp. 37-38).

2.7.5.12. *Ensayo de Borntrager*

Mediante este ensayo se determina la presencia de quinonas en los extractos. Para ello se toma una alícuota del extracto y se evapora en un baño de agua hasta sequedad, el residuo se re disuelve con 1 mL de cloroformo. Posteriormente se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio al 5% en agua, se agita mezclando las dos fases y se deja en reposo hasta su separación. El ensayo se considera positivo si la fase alcalina (superior) se colorea de rosado (++) o rojo (+++).

2.7.5.13. *Ensayo de la Ninhidrina*

Este ensayo identifica la presencia de aminoácidos libres/aminas en los extractos. Se toma una alícuota del extracto etanólico y/o la concentración en baño de agua (si el extracto está en otro solvente), se mezcla con 2 mL de solución de Ninhidrina al 2 % en agua. La mezcla se calienta de 5 a 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla una

coloración azul violácea (Garcia et al. 2020, p. 1211; Alvarez 2018, p. 38).

2.7.5.14. *Ensayo de Antocianidinas*

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calienta una alícuota del extracto alcohólico por 10 minutos con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de coloración roja o marrón en la fase amílica indica que el ensayo es positivo.

2.7.5.15. *Ensayo de Shinoda*

Este ensayo determina la presencia de flavonoides en el extracto vegetal. Se toma una alícuota del extracto y se añade 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y una pequeña porción de cinta de magnesio metálico. Se deja reposar 5 minutos hasta que finalice la reacción, se añade 1 mL de alcohol amílico y se deja reposar hasta separar las fases. Se considera que el ensayo es positivo cuando el alcohol amílico se torna de color amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso (Garcia et al. 2020, p. 1210).

2.7.5.16. *Ensayo de Mucílagos*

Permite conocer en los extractos acuosos de vegetales la presencia de una estructura de tipo polisacárido, el cual forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua con la que se extrae. Para ello, se toma una alícuota del extracto y se enfría a temperatura 0-5°C. Si la solución presenta consistencia gelatinosa se considera positivo para este ensayo.

2.7.5.17. *Ensayos de principios amargos y astringentes*

Para este ensayo se toma una gota del extracto acuoso, se saborea y se diferencia al paladar de forma adecuada (Alvarez 2018, pp. 39-40).

2.7.6. *Preparación del extracto hidroalcohólico de A. conyzoides*

La preparación del extracto se realiza en una proporción 1:10, para ello, se pesa 100 g de la droga vegetal cruda, seca y molida y se coloca en un frasco ámbar con 1000 mL de etanol al 70% y se deja reposar durante 72 horas. Posterior a esto, se filtra, se concentra el extracto a ¼ del volumen

total en el rotavapor a 60°C y 100 RPM, se congela con nitrógeno líquido y se liofiliza hasta que la muestra quede completamente libre de agua (Alvarez 2018, p. 40).

2.7.7. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

El extracto hidroalcohólico obtenido una vez filtrado se utiliza para determinar los parámetros de calidad (Alvarez 2018, p. 40), cada uno por triplicado y se detallan a continuación:

2.7.7.1. Determinación de las características organolépticas

- **Determinación de olor:** Se introduce una tira de papel filtro en el extracto. Se analiza si el olor pertenece a las características propias del extracto.
- **Determinación de color:** En un tubo de ensayo limpio y seco, se coloca una alícuota del extracto obtenido y se define el color y la transparencia del mismo.
- **Determinación de sabor:** Se prueba una gota de extracto. Se analiza si el sabor es propio al de especies vegetales.

2.7.7.2. Determinación de la densidad relativa

Para determinar la densidad relativa, se pesa el picnómetro seco y vacío. Posterior a esto se llena con el extracto hidroalcohólico, se deja reposar durante 15 minutos a 25°C y se pesa adecuadamente. Se repite el ensayo utilizando agua destilada.

Para calcular la densidad del extracto hidroalcohólico se aplica la siguiente ecuación:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

En donde:

D₂₅: Densidad relativa

M₁: Peso del picnómetro con el extracto (g)

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

2.7.7.3. Índice de refracción

Se determina por el método de refractometría. Para ello, se coloca una gota del extracto sobre el prisma de medición del refractómetro digital y se toma la lectura arrojada por el equipo.

2.7.7.4. Medición del pH

Para medir el pH se utiliza un pH-metro digital, para lo cual, se calibra el equipo con la solución buffer reguladora. Finalmente se introduce el electrodo del equipo en una alícuota del extracto y se determina del pH de la muestra.

2.7.7.5. Determinación de sólidos totales

Para determinar los sólidos totales se coloca 5 mL del extracto en una capsula de porcelana previamente tarada y pesada, se evapora hasta sequedad en un baño de agua caliente. La cápsula se coloca en una estufa a 105°C durante 2 horas. Posteriormente, se deja enfriar en el desecador y se pesa. Este proceso se repite hasta obtener 2 pesos constantes. (Capasso et al. 2007, p. 42).

Para determinar la cantidad de sólidos totales se utiliza la siguiente ecuación:

$$ST = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

En donde:

ST: Cantidad de sólidos totales

Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g)

P= Masa de la cápsula vacía (g)

V= volumen del extracto usado para el ensayo.

2.7.8. Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

Para la cuantificación de fenoles totales se prepara soluciones estándar de ácido gálico de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y una solución del extracto a 1000 ppm (Marina et al. 2008 p. 3). Posteriormente se toma una alícuota de 2 mL de las soluciones estándar de ácido gálico y de la muestra, se añade 500 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 500 µL de Na₂CO₃ al 20%.

La mezcla se vortaliza y se afora hasta un volumen de 5 mL. Volver a vortelizar un minuto y se deja reposar en completa oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente. Las lecturas se realizan en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm (Vinueza et al. 2017; p. 2).

2.7.9. Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico

Los flavonoides totales se midieron a través de un ensayo colorimétrico. Se prepara soluciones estándar de quercetina de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, también una solución del extracto a 1000 ppm. Se toma una alícuota de 1 mL de la muestra y de las soluciones estándar de quercetina, se añade 4 mL de agua destilada y 300 µL de NaNO₂ al 5%. Luego de 5 minutos se añade 300 µL de AlCl₃ al 10%, pasado 6 minutos en la oscuridad se añade 2 mL de NaOH 1M, se homogeniza y se lee las absorbancias en el espectrofotómetro a 510 nm (Vinueza et al. 2017; p. 2).

2.7.10. Determinación de los excipientes y la formulación del gel antiinflamatorio

2.7.10.1. Excipientes para la formulación del gel

- Agua destilada
- Carbopol 940
- Extracto concentrado de *A. conyzoides*
- Trietanolamina
- Glicerina

2.7.10.2. Método de preparación

Para preparar el gel antiinflamatorio, se verifica que los enseres y materiales necesarios estén limpios. A continuación, se identifica, se pesa y se rotula los excipientes. Continuamente se disuelve 3 gramos de Carbopol 940 en 500 mL de agua destilada con agitación constante. Posterior a esto se añade los mL de glicerina y trietanolamina necesarios para cada formulación, se mezcla con una varilla de agitación y se agrega el extracto de *A. conyzoides* en las cantidades indicadas en la tabla 4-2.

2.7.10.3. Preparación del gel con extracto de *A. conyzoides*

Tabla 4-2: Formulación del gel a diferentes concentraciones

Componentes	Gel base	Gel 5%	Gel 10%	Gel 20%
Extracto concentrado de <i>A. conyzoides</i>	0 mL	5 mL	10 mL	20 mL
Solución A (Carbopol 940 + agua destilada)	94 mL	91 mL	84 mL	72 mL
Glicerina	3 mL	2 mL	3 mL	4 mL
Trietanolamina	3 mL	2 mL	3 mL	4 mL

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

2.7.11. Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo

Para la investigación se utilizaron 36 ratones *Mus musculus* machos con un peso de 25 a 30 g. Se forma 6 grupos de 6 ratones para diferentes tratamientos, realizando el ensayo con 7 repeticiones como se indica en el modelo experimental.

2.7.11.1. Modelo experimental

Tabla 5-2: Tratamientos a realizar con número de mediciones

TRATAMIENTOS	REPETICIONES						
Blanco	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Control negativo	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Control positivo	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Grupo experimental 1	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Grupo experimental 2	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Grupo experimental 3	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

Donde:

- Blanco: Edema plantar + gel base
- Control negativo: administración supplantar de carragenina sin tratamiento
- Control positivo: Edema plantar + Fármaco estándar (Diclofenaco sódico 1%)
- Grupo experimental 1: Edema plantar + Gel con extracto de *Ageratum conyzoides* al 5%
- Grupo experimental 2: Edema plantar + Gel con extracto de *Ageratum conyzoides* al 10%
- Grupo experimental 3: Edema plantar + Gel con extracto de *Ageratum conyzoides* al 20%

Una vez aclimatados los ratones con 12 horas de ayuno se los distribuye aleatoriamente en 6 grupos, cada grupo conformado por 6 ratones, se procede a marcar su cola para poder identificarlos. Se mide la pata derecha de cada ratón antes de inducir la inflamación con un calibrador pie de rey manual, luego se les inyecta en la misma pata medida 0,03 mL de carragenina al 1% usando una aguja hipodérmica para inducir el edema supplantar.

Para evaluar la inflamación producida por la carragenina se espera 3 horas, tiempo en el cual se logra la inflamación máxima (constante). Se mide la pata en este tiempo, seguidamente se aplica los tratamientos tomando en cuenta la distribución de grupos a trabajar. Finalmente se procede a medir las patas con el calibrador pie de rey manual cada hora durante 6 horas. Los resultados se expresan como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{Mt - Mo}{Mo} \times 100$$

Donde:

Mt= Medida de la pata inflamada a un tiempo x

Mo= Medida normal (antes de producir la inflamación) (Zurita 2019, p. 33).

2.7.12. Análisis estadístico

Para este análisis se utiliza el programa Minitab versión 2019. El test de ANOVA de un factor ya que es una técnica eficiente que ayuda a identificar si existe diferencia significativa entre grupos de tratamiento investigados, con una probabilidad $p < 0,05$. Realizando el planteamiento de las hipótesis:

H₀: “Ninguno de los tratamientos a diferentes concentraciones del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. presenta efecto antiinflamatorio en los animales de experimentación” $p > 0,05$

H₁: “Al menos uno de los tratamientos a diferentes concentraciones del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. presenta efecto antiinflamatorio en los animales de experimentación” $p < 0,05$

Si la hipótesis nula está fundamentada (es decir, no se encuentra evidencia para rechazarla), normalmente no se continua con las siguientes comparaciones estadísticas ya que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, pero si se acepta la hipótesis alternativa se procede a realizar el test de Tukey donde se determina en cuál de los grupos de tratamiento existe una diferencia significativa.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Identificación de la especie vegetal

La especie vegetal se llevó al herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en donde el Ingeniero Jorge Caranqui, botánico y responsable del herbario identificó que pertenece a la familia 2 género *Ageratum* y toma el nombre de *Ageratum conyzoides*. (Anexo J).

3.2. Control de calidad de la droga cruda

Luego de realizar por triplicado el control de calidad de la droga cruda se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 1-3: Control de calidad de la droga cruda

Parámetros	Partes aéreas de <i>Ageratum conyzoides</i> (%)	Limites aceptados por la USP #35
Humedad	5,95 ± 0,02	≤ 14%
Cenizas totales	11,69 ± 0,02	≤ 12%
Cenizas Solubles en Agua	2,34 ± 0,04	≤ 7%
Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico (HCl)	1,84 ± 0,03	≤ 5%

Realizado por: Mainato Karla, 2021.

3.2.1. Determinación del contenido de humedad

En la tabla 1-3, el contenido de humedad de las partes aéreas de *A. conyzoides* fue de 5,95 ± 0,02 siendo inferior a los límites establecidos en la USP 35 (Alvarez 2018, p. 46).

Los valores obtenidos en el estudio realizado por Barros K. (2015, p. 37) sobre *Ageratum conyzoides* fueron de 9,8 ± 0,75, comparando con el presente estudio se observó una diferencia significativa en el contenido de humedad, esto puede deberse al método de secado de la materia vegetal o la técnica usada.

El porcentaje de humedad determinado indica que se ha realizado una correcta recolección, selección, lavado, secado y almacenamiento de la droga vegetal, ya que un elevado contenido de agua contribuye al deterioro y proliferación de microorganismos en la materia prima (Guillen et al.

2011, p. 33).

3.2.2. *Determinación de cenizas totales*

Las partes aéreas de *Ageratum conyzoides* presentaron $11,69 \pm 0,02$ de cenizas totales. En la investigación de Barros K. (2015, p. 37), el valor obtenido fue de $10,34 \pm 0,08$, los dos valores son inferiores pero muy cercanos al límite establecido por la USP (Alvarez 2018, p. 46). El resultado obtenido ofrece fiabilidad de uso del material vegetal ya que indica ausencia de contaminación con materia inorgánica durante su recolección (Villacrés 2017, p. 16).

3.2.3. *Determinación de cenizas solubles en H₂O y cenizas insolubles en HCl*

El contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico fue $1,84 \pm 0,03$ y el contenido de cenizas solubles en agua fue $2,34 \pm 0,04$, estos indican que el contenido de este tipo de cenizas se encuentra dentro de los rangos establecidos por la USP, indicando ausencia de materia inorgánica como tierra, arena o sílice y asegurando su uso en la investigación (Villacrés 2017, p. 17-18).

Alvarez (2018, p. 46-47), obtuvo valores semejantes a los de la presente investigación, los cuales fueron cenizas insolubles en ácido clorhídrico 1,80% y el contenido de cenizas solubles en agua fue 2,17%, valores que están dentro de los parámetros de la USP.

3.3. Tamizaje fitoquímico

Tabla 2-3: Tamizaje fitoquímico de las partes aéreas de *A. conyzoides*

Ensayo	Metabolitos	Extracto etéreo	Extracto etanólico	Extracto acuoso
DRAGENDORFF	Alcaloides	++	+	+
MAYER		+	++	+
WAGNER		+	+	+
SUDAN	Aceites-grasas	+	NA	NA
BALJET	Lactonas-cumarinas	-	++	NA
LIEBERMAN-BURCHARD	Triterpenos y esteroides	+	+	NA
CATEQUINAS	Catequinas	NA	+	NA

RESINAS	Resinas	NA	-	NA
FEHLING	Azúcares reductores	NA	+	+
ESPUMA	Saponinas	NA	-	-
CLORURO FERRICO	Fenoles-taninos	NA	+	-
BORNTRAGER	Quinonas	NA	++	NA
NINHIDRINA	Aminoácidos libres/aminas en general	NA	+	NA
ANTOCIANIDINAS	Secuencia del grupo de los flavonoides	NA	+	NA
SHINODA	Flavonoides	NA	+	+
MUCILAGOS	Polisacáridos	NA	NA	-
PRINCIPIOS AMARGOS		NA	NA	-
(N/A) No aplica, (-) Ausencia, (+) Presencia, (++) Moderado, (+++) Abundante				

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

En la tabla 2-3 se observan los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de los tres extractos.

En el extracto etéreo se identificó una cantidad elevada de alcaloides, presencia de compuestos grasos, triterpenos y esteroides y ausencia de lactonas y cumarinas.

En el extracto alcohólico se determinó una cantidad moderada de alcaloides, lactonas, cumarinas, quinonas, la presencia de triterpenos, esteroides, catequinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, aminoácidos y flavonoides, y no presenta resinas y saponinas.

Mientras que el extracto acuoso se encontró la presencia de alcaloides, azúcares reductores y flavonoides y ausencia de saponinas, fenoles, taninos y polisacáridos.

Una vez realizadas las respectivas pruebas y según los resultados obtenidos de los tres extractos, se evidencia la presencia de diferentes metabolitos, entre ellos flavonoides, fenoles y taninos, a los que se les atribuye una actividad antiinflamatoria y antioxidante en sistemas biológicos (Martinez et al. 2002, p. 274).

Diallo A. (2014, pp. 1214-1218) en su estudio *In vivo and in vitro toxicological evaluation of the hydroalcoholic leaf extract of Ageratum conyzoides L. (Asteraceae)* manifiesta que en el estudio fitoquímico de *Ageratum conyzoides* no se encontró saponinas, taninos y antraquinonas, pero se identificó concentraciones altas de alcaloides, flavonoides, polifenoles y esteroides, los mismos que coinciden con los resultados obtenidos en la tabla 2-3.

3.4. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

Posterior a la preparación del extracto alcohólico (70%) de las partes aéreas de *Ageratum conyzoides* se procedió a determinar los diferentes parámetros de calidad.

Tabla 3-3: Control de calidad del extracto hidroalcohólico de *A. conyzoides*.

Parámetros de calidad		Resultados
Examen organoléptico	Aspecto	Límpido
	Color	Verde
	Olor	Alcohólico aromático característico
	Sabor	Amargo ligeramente astringente
Características físico-químicas	Índice de refracción	$1,36 \pm 0,01$
	pH	$6,03 \pm 0,01$
	Densidad	$0,89 \pm 0,02$
	Sólidos totales	$1,49 \pm 0,01$

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

En la tabla 3-3 se detalla los resultados del control de calidad del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Ageratum conyzoides*. Este extracto mostró un aspecto límpido y una coloración verde propia del material vegetal utilizado, presentó un olor alcohólico aromático característico que se relaciona probablemente con su alto contenido de compuestos fenólicos. Su sabor amargo y ligeramente astringente se relaciona con el pH ácido de $6,03 \pm 0,01$. Este pH indica la presencia de componentes de ácidos débiles (Ochoa et al. 2013, p.57).

El índice de refracción fue de $1,36 \pm 0,01$, superando el índice de refracción del agua que es de 1, lo cual indica la presencia de metabolitos secundarios, como de azúcares que pueden disolverse en el extracto. La densidad relativa fue de $0,89 \pm 0,02$ que al compararla con la densidad inicial al etanol 70% (0,68) se evidencia un incremento bastante significativo asumiendo que existen sustancias disueltas en el extracto. Finalmente, el porcentaje de sólidos totales del extracto es de $1,49 \pm 0,01$; encontrándose dentro de los valores de referencia establecidos en la Farmacopea Española que establece que el porcentaje no debe ser menor a 1,20 lo cual indica una extracción eficiente de metabolitos secundarios (Alvarez 2018, p. 50; Ochoa et al. 2006, pp. 78-83).

3.5. Cuantificación de fenoles totales

Para la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico liofilizado se utilizó la ecuación de la recta: $A = 0.0014C + 0.0144$ y un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9997$.

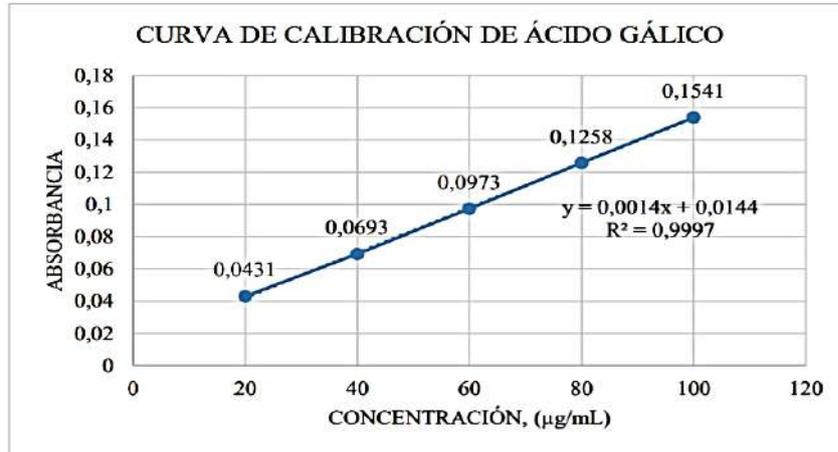


Gráfico 1-3: Curva de calibración del ácido gálico.

Fuente: (Alvarez 2018, p. 51).

Para obtener la concentración de los fenoles totales presentes en el extracto, se interpoló el valor de la absorbancia de la muestra con la curva de calibración del ácido gálico, y se obtuvo los resultados expresados en mg equivalentes de ácido gálico por g del extracto liofilizado.

Tabla 4-3: Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Concentración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>A. conyzoides</i>	Fenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto liofilizado	Porcentaje (%)
1000 µg/mL en etanol al 70%	248,047 ± 5,36	24,80 ± 0,54

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

La tabla 4-3 indica que la concentración de fenoles totales es de $248,047 \pm 5,36$ expresados en mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto liofilizado de *A. conyzoides*, expresados en porcentaje un $24,80 \% \pm 0,54$ del extracto liofilizado, este valor se podría relacionar con la actividad antiinflamatoria que posee la planta (Mesa et al. 2015, p. 5).

En el estudio “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA Y CITOTÓXICA in vitro DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Ageratum conyzoides* L.” realizado por Alvarez (2018, p. 51) el porcentaje de fenoles totales presentes en el extracto liofilizado de las partes aéreas de *A. conyzoides* es del $24.13\% \pm 0.76$, lo cual es similar al valor obtenido. Sin embargo, no existe más datos bibliográficos sobre esta cuantificación para realizar

la comparación de resultados obtenidos.

3.6. Cuantificación de flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico liofilizado se utilizó en el método colorimétrico de tricloruro de aluminio, para esto se preparó una solución de 1000 ppm del extracto liofilizado y se realizó las lecturas correspondientes de las muestras preparadas por triplicado.

Se utilizará la siguiente ecuación de la recta $A = 0.0014C + 0.0144$ y un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9997$.

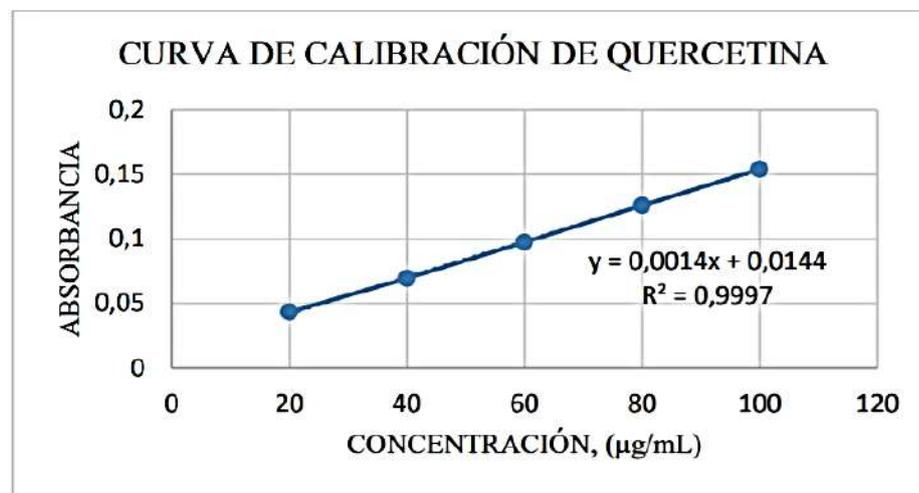


Gráfico 2-3: Curva de calibración de la quercetina

Fuente: (Alvarez 2018, p. 52).

Para la obtención de la concentración de flavonoides totales, se interpoló el valor de la absorbancia de la muestra con la curva de calibración de la quercetina, obteniendo los resultados expresados en mg equivalentes de quercetina por g del extracto liofilizado.

Tabla 5-3: Cuantificación de flavonoides totales por el método colorimétrico de tricloruro de aluminio

Concentración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>A. conyzoides</i>	Flavonoides totales expresados en mg equivalentes de quercetina por g de extracto liofilizado	Porcentaje
1000 µg/mL en etanol al 70%	430,905 ± 4,305	43,091 ± 0,431

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

La tabla 5-3 indica que la concentración de flavonoides totales es de $430,905 \pm 4,305$ expresados

en mg equivalentes de quercetina por g de extracto liofilizado de *A. conyzoides*, expresados en porcentaje un $43,091 \% \pm 0,431$ del extracto liofilizado, este valor elevado hace relación con la actividad antiinflamatoria que posee *A. conyzoides* (Alberto et al. 2007, p. 313).

En el estudio titulado *Quantitative Analysis of Total Phenolic, Flavonoids and Tannin Contents in Acetone and n-hexane Extracts of Ageratum conyzoides* Sultana et al. (2012, pp. 997-998) indica que la cantidad de flavonoides totales expresados en mg equivalentes de quercetina por g de extracto seco de n-hexano es $1172,55 \pm 17,69$ mientras que en el extracto de acetona fue $721,98 \pm 72,61$.

El resultado que se obtuvo de flavonoides en extracto hidroalcohólico liofilizado es $430,905 \pm 4,306$, un valor significativamente alto de flavonoides. Al comparar el contenido de flavonoides en los diferentes extractos se puede decir que el alto contenido de flavonoides en el extracto n-hexano es porque este solvente es más potente para eliminar los radicales libres (ROS) en comparación con los otros extractos (Sultana et al. 2012, pp. 997-998).

3.7. Actividad antiinflamatoria in vivo

La determinación de la actividad antiinflamatoria *in vivo* de los geles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* se llevó a cabo mediante el método de edema suplantado inducido con carragenina en animales de experimentación. Se utilizó el modelo experimental descrito en la tabla 4-2. Recolectando datos en los diferentes tiempos (t1, t2, t3, t4, t5, t6, t7). Se empleó como modelo animal ratones *Mus musculus* machos de 25 a 30 g, escogidos aleatoriamente para después de ser codificados en dependencia del tratamiento correspondiente.

Tabla 6-3: Porcentaje de inflamación en diferentes tiempos de medición.

PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN							
TRATAMIENTO	TIEMPO DE MEDICIÓN						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Control negativo (Carragenina)	31,37	31,37	31,37	31,37	31,37	30,82	30,82
Blanco (Gel base)	30,70	30,70	30,70	30,70	30,70	30,18	30,18
Control positivo (Diclofenaco sódico 1%)	34,28	20,11	10,33	5,45	3,26	2,71	2,15
Cel 5%	34,08	30,83	29,78	28,68	28,16	27,09	26,53
Gel 10%	34,24	26,10	19,06	13,09	9,30	6,56	5,45
Gel 20%	33,04	19,49	12,99	8,67	7,59	6,53	4,36

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

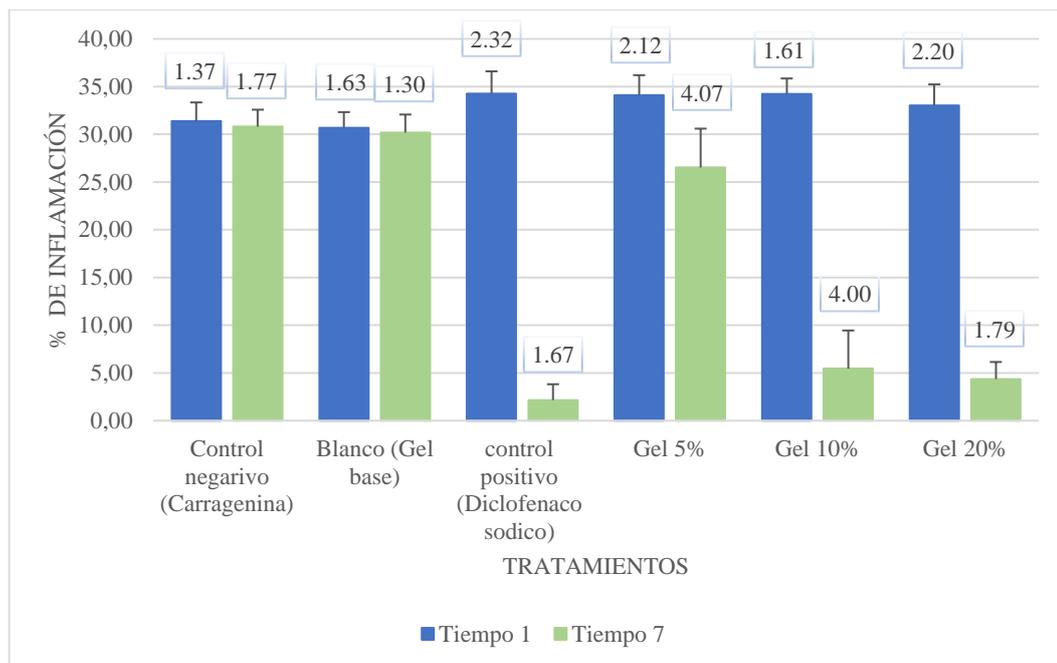


Gráfico 3-3: Porcentaje de inflamación en los tratamientos empleados en el primero (3 horas posterior a la aplicación de carragenina) y último tiempo de medición (7 horas)

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

La tabla 6-3 muestra una reducción de la inflamación en el edema plantar inducido en los animales de experimentación posterior a la aplicación del Diclofenaco sódico 1 % como de los geles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides*. Se evidencia que desde la medición dos (tiempo 2) existe una disminución de la inflamación a diferencia del grupo control negativo y el blanco que disminuye en las últimas horas en un pequeño porcentaje. Esto se puede deber al propio sistema inmune del ratón que actúa para restaurar el tejido que fue atrofiado por la aplicación de carragenina (Zurita 2019, p. 46).

En el gráfico 3-3 se observa de forma más dinámica como disminuye el porcentaje de inflamación entre el tiempo 1 y el tiempo 7, evidenciando que los geles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* reducen la inflamación en los animales de experimentación.

3.7.1. Análisis estadístico

Se realizó el test de ANOVA de los tratamientos aplicados a los 6 grupos de ratones. Para determinar si $p \geq 0,05$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no existe diferencia significativa entre los tratamientos aplicados, pero si $p < 0,05$ se procede a realizar el

test de Tukey, mismo que determinará en cuál de los grupos de tratamiento existe diferencia significativa. Se obtuvo como resultado:

Tabla 7-3: Análisis estadístico Test ANOVA para los tratamientos en los 7 tiempos

Fuente	GL	SC Ajustado	MC Ajustado	Valor F	Valor p
Tratamientos	5	3067	613,40	10,00	0,000
Error	36	2209	61,35		
Total	41	5276			

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

Según el análisis estadístico realizado con un nivel de confianza del 95% dio como resultado que $p < 0,05$, por lo que se procedió a rechazar la hipótesis nula y a aceptar la hipótesis alternativa que indica que si existe diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos aplicados. Se procedió a realizar el test de Tukey con una confianza del 95% para determinar en cuál de los tratamientos existe una diferencia significativa, obteniéndose lo siguiente:

Tabla 8-3: Test de Tukey y una confianza de 95%

FACTOR	N	MEDIA	AGRUPACIÓN		
Control negativo	42	31,214	A		
Blanco	42	30,328	A		
Gel 5%	42	29,307	A		
Gel 10%	42	16,26		B	
Gel 20%	42	13,24		B	C
Control positivo (Diclofenaco)	42	11,18			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

Mediante el test de Tukey se determinó cuales tratamientos fueron significativamente diferentes y los que tenían una estrecha relación. En la tabla 8-3 se muestra que el grupo control negativo, el blanco y el tratamiento gel 5% son diferentes a los demás, a pesar de que el tratamiento con el gel al 5% redujo la inflamación. Por otro lado, el tratamiento con el gel al 10% y 20% no son significativamente diferentes. Mientras que el gel al 20% no presenta diferencias significativas con el control positivo (diclofenaco sódico 1%) dando a entender que el gel al 10% y 20%, son efectivos y muy buenos disminuyendo la inflamación.

Tabla 9-3: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
Gel 10% - Gel 5%	-13,05	1,67	(-17,81; -8,29)	-7,81	0,000
Gel 20% - Gel 5%	-16,07	1,67	(-20,83; -11,31)	-9,61	0,000
Control positivo (Diclofenaco sódico 1%) - Gel 5%	-18,12	1,67	(-22,89; -13,36)	-10,84	0,000
Blanco - Gel 5%	1,02	1,67	(-3,74; 5,78)	0,61	0,990
Control negativo - Gel 5%	1,91	1,67	(-2,86; 6,67)	1,14	0,864
Gel 20% - Gel 10%	-3,02	1,67	(-7,78; 1,74)	-1,81	0,462
Control positivo (Diclofenaco sódico 1%) - Gel 10%	-5,07	1,67	(-9,84; -0,31)	-3,04	0,029
Blanco - Gel 10%	14,07	1,67	(9,31; 18,83)	8,42	0,000
Control negativo - Gel 10%	14,96	1,67	(10,19; 19,72)	8,95	0,000
Control positivo (Diclofenaco sódico 1%) - Gel 20%	-2,05	1,67	(-6,82; 2,71)	-1,23	0,823
Blanco - Gel 20%	17,09	1,67	(12,33; 21,85)	10,22	0,000
Control negativo - Gel 20%	17,98	1,67	(13,21; 22,74)	10,76	0,000
Blanco - Control positivo (Diclofenaco sódico 1%)	19,14	1,67	(14,38; 23,91)	11,45	0,000
Control negativo - Control positivo (Diclofenaco sódico 1%)	20,03	1,67	(15,27; 24,79)	11,98	0,000
Control negativo - Blanco	0,89	1,67	(-3,88; 5,65)	0,53	0,995

Nivel de confianza individual = 99,53%

Elaborado por: Mainato Karla, 2021.

En la Tabla 9-3, con un nivel de confianza individual de 99,53%, se indica que cuando el valor *p* ajustado es mayor a 0.05 existe similitud, según se indica en dicha tabla el blanco y el gel al 5% así como el control negativo con el gel al 5% presentan similitud, deduciendo que el gel al 5% no ayuda a desinflamar adecuadamente el edema inducido, por otra parte el gel al 20% presenta similitud con el control positivo (Diclofenaco sódico 1%) por lo que se intuye que el gel al 20% disminuye la inflamación.

De los análisis y test realizados se ha podido determinar que los geles elaborados a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* disminuyen la inflamación. Se obtuvo como resultado que los geles al 10% y 20% tuvieron muy buena respuesta antiinflamatoria, mientras que el gel al 5% no redujo la inflamación significativamente. Cabe mencionar que el gel al 20% fue bastante efectivo, pero no supera a la actividad biológica del diclofenaco sódico 1%.

De acuerdo a la bibliografía analizada Faqueti et al., (2016) en su estudio “Antinociceptive and anti-inflammatory activities of standardized extract of polymethoxyflavones from *Ageratum*

conyzoides” indica que se aislaron siete compuestos en el extracto estandarizado de polimetoxiflavonas (SEPAc) siendo los más importantes la 5,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona; nobiletin; upalestina y 5'-metoxinobiletina siendo esta última la más abundante.

Se indica que el SEPAc tiene efectos antinociceptivos y antiinflamatorios tras realizar ensayos basados en la prueba de formalina en 128 ratones suizos hembras entre 25 a 35 g. Los estudios iniciales se basaron en la prueba de formalina, modelo usado para inducir un dolor persistente en los ratones, los resultados muestran que la inyección intraplantar de formalina dio como resultado dolores nociceptivos durante los primeros 5 minutos y los siguientes 15-30 minutos un dolor inflamatorio.

Además, la formalina indujo un edema marcado en la pata del animal que al ser tratado con SEPAc (10-300 mg/kg) redujo tanto el dolor neurogénico como la inflamación inducida, mientras que la indometacina (AINE's de referencia) fue capaz de reducir significativamente la fase inflamatoria y el edema inducido en la pata del animal, pero no el dolor neurogénico en la prueba de formalina. Esta información se relaciona mucho con la obtenida en el estudio realizado, de lo que se podría decir que los geles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* si ayudan a disminuir la inflamación.

La formulación del gel es viable, ya que frecuentemente se puede obtener extractos de plantas con muy buena actividad biológica, pero estos no pueden ser vehiculizados de manera correcta. Por su estado semisólido, con alto grado de claridad y facilidad de aplicación fue posible una liberación rápida de la droga, permitiendo corroborar los resultados que se intuía tal como lo indican en su estudio Ríos y Rodríguez (2013, p. 46).

CONCLUSIONES

- Con base en los resultados del tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de varios metabolitos secundarios importantes con posibles efectos terapéuticos, entre ellos compuestos fenólicos y flavónicos que tienen relación directa con la actividad antiinflamatoria del extracto de *Ageratum conyzoides*, por lo cual se cuantificó los mismos obteniéndose un porcentaje de $24,80 \% \pm 0,54$ de fenoles totales y un $43,091 \% \pm 0,431$ de flavonoides totales en el extracto liofilizado. Esto permitió elaborar una formulación con características antiinflamatorias.
- Mediante la formulación de geles al 5, 10 y 20% y gracias a la afinidad de los excipientes con el extracto hidroalcohólico *Ageratum conyzoides* se logró vehicular el mismo, permitiendo dosificar y aplicar la forma farmacéutica en los animales de experimentación.
- Por medio del modelo de edema plantar inducido por carragenina se determinó que el gel a base de extracto concentrado de *Ageratum conyzoides* al 20% mostró mayor eficacia antiinflamatoria, estadísticamente similar al diclofenaco sódico 1%, logrando una disminución significativa de la inflamación en la hora 7, por lo cual se lo considera un antiinflamatorio tópico eficaz gracias a sus compuestos fenólicos y flavónicos presentes en la formulación.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda determinar la toxicidad local tanto aguda como crónica del extracto de *Ageratum conyzoides* en animales de experimentación (*Mus musculus*) con el objetivo de establecer la seguridad de dicho extracto.
- Establecer estudios preclínicos a fin de confirmar la eficacia del gel con extracto de *Ageratum conyzoides* 20% como fitofármaco con actividad antiinflamatoria tópica.
- Ampliar la investigación de la planta *Ageratum conyzoides*, ya que puede presentar más propiedades farmacológicas beneficiosas para el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer.

GLOSARIO

Analgésicos: Conocido también como antiálgicos, la palabra analgésico procede del griego a-/an: (carencia) y de algos (dolor); son aquellos medicamentos capaces de suprimir o aliviar la sensación dolorosa (Esteva 2008, p. 68).

Antiinflamatorio: Se conoce como antiinflamatorio aquel medicamento habitualmente empleado para evitar o disminuir la inflamación de los tejidos (Divins 2014, p. 19).

Antioxidante: Es cualquier sustancia que cuando está presente, retarda e inhibe la oxidación de sustratos oxidables al ataque de las especies reactivas de oxígeno (ROS) a pesar de estar presente en concentraciones más bajas que el sustrato (Sánchez 2013, p. 4).

Aquenio: Fruto monospermo (con una sola semilla), ovario súpero, con pericarpo coriáceo y sin alas, no soldado a la semilla, procede de un carpelo, o de varios soldados (Invernón et al. 2012, p. 4).

Bofedales: Son un tipo particular de humedales, propios de la región altoandina. Su característica principal es la humedad edáfica constante durante todo el año (Moya 2015; Maldonado 2014, p. 6).

Carragenina: Conocida también como carragenano, es un ficocoloide obtenido de algas de varias familias de *Rhodophyceae* (Corona et al. 2007, p. 55; Sosa 2019).

Corticoides: Incluyen una serie de hormonas esteroideas producidas de forma natural en la corteza de las glándulas suprarrenales y derivados sintéticos modificados y estructura básica. Son drogas frecuentemente utilizadas para tratar diversas situaciones clínicas (Botargues 2011, p. 33, ENZ y Musso 2011).

Diurético: Son herramientas terapéuticas potentes y usadas con diversos fines, estos fármacos actúan sobre los riñones estimulando la excreción de agua y electrolitos al alterar el transporte iónico a lo largo de la nefrona (Cruz 2018, p. 566; Jimenez 2017, p. 11).

Esguince: Es una torcedura articular traumática que origina una distensión o rotura completa de los tejidos conectores estabilizadores (Enríquez et al. 1985).

Excipientes: Los excipientes son todos los componentes de la forma farmacéutica distintos al principio activo. Son esenciales para la fabricación de medicamentos ya que ayudan a mantener

su forma física, la calidad, estabilidad, biodisponibilidad y su conservación (Osakidetsa 2019, p. 18).

Lepra: Conocida también como enfermedad de Hansen, es producida por *Mycobacterium leprae*. Es una infección granulomatosa crónica que afecta, preferentemente a los tejidos superficiales y los nervios periféricos (Zaragozano 2001, p. 309).

Prostaglandinas: Son un grupo de sustancias de carácter lipídico, tienen un ciclo con oxígeno y dos cadenas alifáticas. Se derivan de la oxidación del ácido araquidónico, una de sus funciones principales es intervenir en la respuesta inflamatoria (Martinez y Rivas 2005, p. 210).

Solventes: Sustancia que permite la dispersión de otra sustancia en esta a nivel iónico o molecular. Es el medio dispersante de la solución (Cova 2009, p.3).

Suspensión: Es un sistema disperso heterogéneo constituido por la dispersión de un sólido en un líquido (Oliva y Santoveña 2009, p. 3).

BIBLIOGRAFIA

- AGUIRRE, Z., JARAMILLO, N. & QUIZHPE, W.,** *Arvenses asociadas a cultivos y pastizales del ecuador* [en línea]. Loja-Ecuador: Ediloja, 2019. [Consulta: 17 mayo 2021]. Disponible en: https://unl.edu.ec/sites/default/files/archivo/2019-12/ARVENSES%20ASOCIADOS%20A%20CULTIVOS%20Y%20PASTIZALES%20DEL%20ECUADOR_compressed.pdf
- ALBERTO, M.R., NIEVA MORENO, M., ZAMPINI, I.C. & ISLA, M.I.,** "Actividad antiinflamatoria de flavonoides naturales estructuralmente relacionados". *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromáticas* [en línea], 2007, (Chile) 6(6), pp. 313-314 [Consulta: 19 mayo 2021]. ISSN: 0717-7917. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85617472001.pdf>
- ALVARADO BONILLA, Helen Lisette.** Estudio biofarmacéutico de triterpenos pentacíclicos antiinflamatorios vehiculizados en sistemas nanoestructurados para aplicación tópica (Trabajo De Titulación) (Doctoral). [en línea] Universidad De Barcelona, Barcelona, España. 2015. pp. 1-145 [Consulta: 19 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/handle/10803/301772#page=9>
- ÁLVAREZ, J. & MEDELLIN, R.** *Mus Musculus Linnaeus ,1758*. [Blog]. México, 2005. [Consulta: 15 mayo 2021] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Musmusculus00.pdf>
- ALVAREZ LEMA, Dennis Javier.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. (Trabajo De Titulación) [en línea] Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2018. pp. 6-62 [Consulta: 16 mayo 2021] Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/9566>
- ARIZA, ANDRES CARLOS, & ALMANZA-MERCHÁN, PEDRO JOSÉ.** "Identificación y clasificación en biotipos de las malezas asociadas con el cultivo de la palma de aceite" *Ciencia Y Agricultura* [en línea], 2012, (Colombia) 9(2), pp. 87-96. [Consulta: 19 mayo 2021]. ISSN: 0122-8420. Disponible en: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_agricultura/article/view/2819/2587

- BAHTIAR, A., NURAZIZAH, M., ROSELINA, T., TAMBUNAN, A.P. & ARSIANTI, A.,** "Ethanol extracts of babandotan leaves (*Ageratum Conyzoides* L.) prevents inflammation and proteoglycan degradation by inhibiting TNF-A and MMP-9 on osteoarthritis rats induced by monosodium iodoacetate". *Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine* [en línea], 2017, (Indonesia) 10(3), pp. 270-277. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN: 19957645. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.006>
- BARROS NAVARRETE, Katherine Estefanía.** Estudio de la calidad bacteriológica de doce plantas medicinales procesadas en la planta piloto de Farmacia de la Universidad Técnica de Machala (Trabajo De Titulación) [en línea] Universidad Técnica De Machala, Unidad Académica De Ciencias Químicas Y De La Salud Machala-Ecuador. 2015. pp. 1-71. [Consulta: 16 mayo 2021] Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2820>
- BATLOUNI, M.** "Antiinflamatorios no esteroideos : efectos cardiovasculares, cerebrovasculares y renales". *Sociedad Brasileira De Cardiología* [en línea], 2010, (Brasil) 94(4), pp. 538-546. [Consulta: 19 mayo 2021]. ISSN: 04087-000. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/abc/a/tF6ntrTM9pyt8r9Tmvtgfm/abstract/?lang=es>
- BOADA M., COLOM A., & CASTELLÓ N.** *La experimentacion animal* [Blog]. 2007 [Consulta: 19 mayo 2021]. Disponible en: https://docplayer.es/9838662-la-experimentacion-animal-maria-boada-sana-ana-colom-comi-nila-castello-echeverria.html#show_full_text
- BORDÉS GONZÁLEZ, R., MARTÍNEZ BELTRÁN, M., GARCIA OLIVARES, E. & GUIADO BARRILAO, R.** El proceso inflamatorio [Blog]. [Consulta: 15 mayo 2021]. Disponible en: <https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/266/1994-5.pdf?sequence=1>
- BOTARGUES, M., ENZ, P., & MUSSO, C.** "Tratamiento con corticoides". *Evidencia, Actualizacion En La Práctica Ambulatoria* [en línea], 2011, (Argentina) 14(1), pp. 33-36. [Consulta: 20 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.fundacionmf.org.ar/files/11.pdf>
- CAELLES, C.** "La inflamación: primera línea de defensa o caballo de Troya". *Sebbm Divulgación* [en línea], 2017, (España) [Consulta: 20 mayo 2021]. Disponible en: <https://web2020.sebbm.es/web/es/web/es/divulgacion/acercate-nuestros-cientificos/2164-carne-caelles-junio-2017-la-inflamacion-primera-linea-de-defensa-o-caballo-de->

troya?start=1#:~:text=se%20trata%20de%20una%20respuesta,reparaci%c3%b3n%20de%20los%20tejidos%20afectados.

CAJAS UQUILLAS, Paúl David. Elaboración y estudio de estabilidad de un gel de ácido salicílico utilizando como gelificante quitosano (Trabajo De Titulación) [en línea] Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Ciencias Químicas, Quito, Ecuador. 2013. pp. 1-116. [Consulta: 20 mayo 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4378>

CAPASSO, R., BORRELLI, F., LONGO, R. & CAPASSO, F. *Farmacognosia applicata: controllo di qualità delle droghe vegetali* [en línea]. Italia: Springer- Velag Italia, 2007. [Consulta: 20 mayo 2021]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=gSR7KQTMKNgC&printsec=frontcover&dq=Farmacognosia+Applicata:+Controllo+Di+Qualit%C3%A0+Delle+Droghe+Vegetali&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Farmacognosia%20Applicata%3A%20Controllo%20Di%20Qualit%C3%A0%20Delle%20Droghe%20Vegetali&f=false

CARDOZO, A., MRAD DE OSORIO, A., MARTINEZ, C., RODRIGUEZ, E. & LOLAS, F. *El animal como sujeto experimental. aspectos técnicos y éticos* [en línea]. Chile: Andros Impresores [Consulta: 04 junio 2021]. Disponible en: <https://www.healthresearchweb.org/files/libroanimales.pdf>

CARTAYA, O. & REYNALDO, I. "Flavonoides : Características químicas y aplicaciones". *Instituto Nacional De Ciencias Agrícolas* [en línea], 2001, 22(2), pp. 5-14. [Consulta: 04 junio 2021]. ISSN: 0258-5936. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>

CORONA, R., QUINCOCES, M., FIALLO, G., ACOSTA, L., HEREIRA, A., LOPEZ, M. & MELENDREZ DE ARMA, E. "Caracterización de carrageninas obtenidas a partir de diferentes especies de macroalgas marinas cubanas". *Revista Cubana De Química* [en línea], 2007, (Cuba) 19(2), pp. 55-58. [Consulta: 04 junio 2021]. ISSN: 0258-5995. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543707008>

COVA, V. *Físico-Química Biológica Unidad 5. Soluciones Acuosas* [en línea], Argentina: 2018. [Consulta: 04 junio 2021]. Disponible en: http://www.unl.edu.ar/ingreso/cursos/medicina/wp-content/uploads/sites/8/2017/10/Quimica_05.pdf

- CRUZ ARANDA, J.E.** "Fármacos diuréticos: alteraciones metabólicas y cardiovasculares en el adulto mayor". *Medicina Interna De Mexico* [en línea], 2018, (México) 34(4), Pp. 566-573. [Consulta: 11 junio 2021]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0186-48662018000400008
- D´ARMAS, H., MONTESINOS, K., JARAMILLO, C. & LEÓN, R.** "Composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador". *Revista Cubana De Plantas Medicinales* [en línea], 2017, (Ecuador) 22(2), pp. 1-14. [Consulta: 04 junio 2021]. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/428/282>
- DE DIEGO, M., & DEL ARCO, J.** "Geles"[en línea], 2017, 41(400), pp. 111-116. [Consulta: 16 mayo 2021] Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5853499>
- DIVINS, M.** "Antiinflamatorios". *Farmacia Profesional*. [en línea], 2014, 28, (5), pp. 19-22. [Consulta: 28 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antiinflamatorios-x0213932414516582>
- ENCISO, E. & ARROYO, J.** "Efecto antiinflamatorio y antioxidante de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas". *An Fac Medicina* [en línea], 2011 (Perú) 72(4), pp. 231-237. [Consulta: 22 mayo 2021]. ISSN: 10255583 Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1025-55832011000400002
- ENRÍQUEZ, E., JIMENEZ, D., HAZAÑAS, S. & CONDE, M.** Esguinces. [Blog] [Consulta: 19 mayo 2021]. Issn 10255583 Disponible en: <https://cupdf.com/document/62-esguinces.html>
- ESTEVA, E.** "Analgésicos clasificacion y uso". *Offarm* [en línea], 2008, 27(8), pp. 68-74. [Consulta: 02 septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-analgescicos-clasificacion-uso-13126070>
- FAQUETI, L.G., BRIEUDES, V., HALABALAKI, M., SKALTSOUNIS, A.L., NASCIMENTO, L.F., BARROS, W.M., SANTOS, A.R.S. & BIAVATTI, M.W.** "Antinociceptive and anti-inflammatory activities of standardized extract of polymethoxyflavones from *Ageratum conyzoides*". *Journal Of Ethnopharmacology*, [en

línea], 2016 (Brasil) 194, pp. 369-377. [Consulta: 03 mayo 2021]. ISSN: 0378-8741
Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874116307838>

FUENTES PAREDES, F., MENDOZA YANAVILCA, R., ROSALES, A. & CISNEROS, R.
Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Raton [en línea]. Lima- Perú. 2008.
] [Consulta: 19 mayo 2021] Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/ins/962_ins68.pdf

FUKALOVA, T.F. *Farmacognosia y productos naturales manual de laboratorio*. Quito- Ecuador, 2017, pp. 5-77

GARCÍA-SÁNCHEZ, C.A., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, A. & VILLASEÑOR, J.L. "La familia Asteraceae en el Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México". *Acta Botánica Mexicana* [en línea], 2014 (México) (106), pp. 97-116. [Consulta: 02 mayo 2021]. ISSN: 0187-7151 Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57429297005>

GARCIA, A.P., TAMARGO, B., SALAS, E., CALZADILLA, C., ACEVEDO, R. & SIERRA, G. "Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L. que crece en Cuba". *Revista Bionatura* [en línea], 2020 (Cuba) 5(3), pp. 1209-1214. ISSN: 13909355 [Consulta: 23 mayo 2021]. ISSN: 0187-7151 Disponible en: <https://www.revistabionatura.com/files/2020.05.03.7.pdf>

GARROTE, A. & BONET, R. "El papel de los AINES´S en el tratamiento analgésico". *Offarm* [en línea], 2003 22(2), pp. 56-62. [Consulta: 13 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-papel-aime-el-tratamiento-13043197>

GÓMEZ, J.R., DE, SANTOS, G., DOMÉNECH, R.M., CORTÉZ R., & CIENFUEGOS, A.
Antiinflamatorios no esteroideos [Blog]. España, 2010. [Consulta: 10 abril 2021] Disponible en: <https://www.studocu.com/ec/document/universidad-de-guayaquil/farmacologia/cap-26-antiinflamatorios-no-esteroideos/13568755>

GONZÁLES, P. "Diversidad de Asteráceas en los humedales altoandinos del Perú". *Científica*, [en línea], 2015 (Perú) 12(2), pp. 99-114. [Consulta: 02 mayo 2021]. Disponible en: <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/cientifica/article/view/157>

GONZÁLEZ-COSTA, M. & GONZÁLEZ, A.A. "La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXL". *Revista Habanera De Ciencias*

Medicas [en línea], 2018 (Cuba) 18(1), pp. 30-44. [Consulta: 02 mayo 2021]. ISSN: 1729-519x Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1729-519x2019000100030

GUILLEN MENA, Paúl Orlando, & SARMIENTO BERREZUETA, Germán Ismael.

Validación de las metodías aplicadas a los procesos de selección, lavado, secado y almacenamiento para plantas medicinales a través de aplicación de técnicas oficiales basadas en la farmacopea de la Organización Mundial de la Salud [en línea]. (Trabajo De Titulación)Universidad De Cuenca, Cuenca, Ecuador. 2011. pp. 31-32. [Consulta: 12 mayo 2021] Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2457>

HURRELL, J.A., BAYÓN N.D., & DELUCCHI G. *Plantas cultivadas de la Argentina:*

Asteráceas compuestas [en línea]. Buenos Aires - Argentina: Editorial Emisferio Sur, 2017 [Consulta: 24 abril 2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324418670_plantas_cultivadas_de_la_argentina_asteraceas_compuestas_tribu_cichorieae

INVERNÓN, V., GONZÁLEZ, M., LÓPEZ, E., ARNELAS, I. & DEVESA, J. 2012. "Manual

de laboratorio de botánica: el fruto" *Reduca (Biología). Serie Botánica* [en línea], 2012 (España) 5(2), pp. 1-14. [Consulta: 24 abril 2021] ISSN: 1989-3620. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/910>

JIMENEZ JARAMILLO, Juan Manuel. Mecanismo de acción de los diuréticos (Trabajo De

Titulación) [en línea], Universidad De La Laguna, Facultad De Farmacia, España. 2017. pp. 15-17. [Consulta: 13 agosto 2021]. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/4266/MECANISMO%20DE%20ACCION%20DE%20LOS%20DIURETICOS.pdf?sequence=1>

JORDÁ SIERRA, AMAYA. *Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para*

superar situaciones de estrés abiótico. [Blog], Terralia, 2015 [Consulta: 13 agosto 2021]. Disponible en: <https://aefa-agronutrientes.org/compuestos-fenolicos-para-superar-situaciones-de-estres-abiotico>

LÓPEZ PINO, B.E., ARROYAVE SOSA, C.P., LONDOÑO PEREZ, D.M., LÓPEZ NARANJO, D.F. CARDONA ARISTIZÁBAL M.L., & HICAPIÉ LLANOS, C.A.

"Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos de *Tithonia diversifolia* (hems) A. gray (botón de oro) y de *Ageratum conyzoides* L. (marrubio)". *Revista Cubana De Plantas Medicinales*, [en línea], 2018, (Colombia) 23 (3), pp. 1-14. [Consulta: 24 abril 2021]

Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/575>

MALDONADO FONKÉN, M.S. "Introducción a los bofedales de la región altoandina peruana". *Mires And Peat* [en línea], 2014 (Perú) 15(5), pp. 1-13. [Consulta: 15 abril 2021]
ISSN: 1819-754x Disponible en: http://mires-and-peat.net/media/map15/map_15_05_spanish.pdf

MARINA, D., AVELLA, G., ALBERTO, C., GARCÍA, O. & CISNEROS, A.M. 2008. "Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal" *Simposio De Metrologia* [en línea], 2008 pp. 1-5. [Consulta: 13 abril 2021] Disponible en: http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/m2/sm2008-m220-1108.pdf

MARTINEZ, A. & RIVAS, S. "Funciones de las prostaglandinas en el sistema nervioso central". *Revista De La Facultad De Medicina Unam* [en línea], 2005, (México) 48 (5), pp. 210-216. [Consulta: 12 agosto 2021], Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2005/un055i.pdf>

MARTINEZ, S., GONZALEZ GALELGO, J., CULEBRAS, J. & TUÑÓN, M. "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes". *Nutricion Hospitalaria* [en línea], 2002, (España) 17(6), pp. 271-278. [Consulta: 05 abril 2021]. ISSN: 0212-1611. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

MEDINA CAIMINAGUA, Mariuxi .Lissette. Determinación del contenido total de hongos en doce especies vegetales cultivadas en Ecuador [en línea] (Trabajo De Titulación). Universidad Técnica De Machala, Machala, Ecuador. 2015. pp.28-29 [Consulta: 03 mayo 2021]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/3270>

MÉNDEZ LEMA, ELSA ESTELA. Elaboración, control de calidad y evaluación "in vivo" de la actividad antibacteriana de un gel obtenido del extracto alcaloidal del chocho [en línea] (Trabajo De Titulación). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias, Riobamba, Ecuador pp. 15-17 [Consulta: 10 mayo 2021]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/208>

MESA-VANEGAS, A.M., ZAPATA-URIBE, S., ARANA, L.M., ZAPATA, I.C., MONSALVE, Z. & ROJANO, B. "actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides L.*". *Boletin Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromaticas* [en línea], 2015, (Chile) 14(1), pp. 1-10. [Consulta: 04 abril

2021] ISSN: 0717-7917. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>

MIRANDA MARTÍNEZ, M. & CUÉLLAR, A. *Manual de prácticas de laboratorio farmacognosia y productos naturales*. La Habana, Cuba: Uh. Instituto De Farmacia Y Alimentos, 2001 pp. 1-50.

MOURELLE, C., HERRERO, E. & RICCA, M. "Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio". *Spei Domus*, [en línea], 2013, (Argentina) 9(19), pp. 39-47. [Consulta: 10 mayo 2021] ISSN: 1794-7928. Disponible en: <https://Doi.Org/10.16925/Sp.V9i19.708>

MOYA I., MENESES R., & SARMIENTO J. *Bofedales Altoandinos* [en línea] Segunda Edición. La Paz - Bolivia: Museo Nacional De Historia Natural, 2015. [Consulta: 12 abril 2021]. Disponible en: https://www.academia.edu/37316319/Bofedales_Altoandinos

MURIEL, CLEMENTE., SANTOS, JUAN. & SANCHEZ MONTERO, FRANCISCO. *FARMACOLOGIA de los analgésicos no opiáceos (AINE'S)* [Blog]. [Consulta: 10 mayo 2021]. Disponible en: <http://www.catedradeldolor.com/PDFs/Cursos/Tema%206.pdf>

OCHOA PACHECO, A., MARIN MORAN, J., RIVERO BREFF, D. & AGUILERA SABORÍ, E.M. "Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana" *Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas* [en línea], 2013, (Cuba) 44(1), pp. 52-59. [Consulta: 17 abril 2021] ISSN: 1870-0195. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000100007

OCHOA PACHECO, A., MARIN MORAN, J., FERNÁNDEZ, D., VINET Y.. & GARCÍA Y. "Estandarización preliminar de parámetros de calidad del extracto blando de las hojas de *Petiveria alliacea* L.". *Revista Cubana De Química* [en línea], 2006, (Cuba) 18(3), pp. 78-83. ISSN: 0258-5995 [Consulta: 05 junio 2021] Disponible En: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543705010>

OLIVA, A. & SANTOVEÑA, A. *Prácticas De Tecnología Farmacéutica* [Blog]. [Consulta: 05 agosto 2021]. Disponible en: <https://dokumen.tips/documents/tec-farmaceutica.html>

OSAKIDETSA. 2019. "Excipientes : ¿ Sustancias inertes ?". *Infac* [en línea], 2019, (España)

27(3), pp. 1-8. [Consulta: 05 agosto 2021] Disponible en: <https://www.fundacionfemeba.org.ar/blog/farmacologia-7/post/excipientes-sustancias-inertes-46944#:~:text=En%20general%2C%20los%20excipientes%20se,con%20determinadas%20alergias%20o%20intolerancias.>

PEÑARRIETA, J.M., TEJEDA, L., MOLLINEDO, P., VILA, J.L. & BRAVO, J.A.
"Phenolic compounds in food". *Revista Boliviana De Química* [en línea], 2014, (Bolivia) 31(2), pp. 68-81. ISSN: 0250-5460. [Consulta: 16 junio 2021] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006>

PÉREZ, Y., RODRÍGUEZ, E., AGUILAR, B., GONZÁLES, M. & HUNG, B.
"Caracterización físico-química de extractos de *Spondias mombin* L.". *Revista Cubana De Química*, [en línea], 2016, (Cuba) 28(1), pp. 444-449. ISSN: 2224-5421. [Consulta: 12 mayo 2021] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=s2224-54212016000100008

RAHMAN, A., AKTER, N., RASHID, H., UDDIN AHMED, N., UDDIN, N. & ISLAM, S.
"Analgesic and anti-inflammatory effect of whole *Ageratum conyzoides* and *Emilia sonchifolia* alcoholic extracts in animal models". *African Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, [en línea], 2012, (Sudáfrica) 6 (20), pp. 1469-1476. ISSN: 1996-0816. [Consulta: 14 abril 2021] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259791296_analgesic_and_anti-inflammatory_effect_of_whole_ageratum_conyzoides_and_emilia_sonchifolia_alcoholic_extracts_in_animal_models

RÍOS OCHOCHOQUE, Renzo Martín, & RODRIGUEZ AMADO, José Luis. Evaluación del efecto antiinflamatorio de un gel tópico a base de *Gamochaeta americana* (queto queto) en animales de experimentación [en línea] (Trabajo De Titulación) Universidad Católica De Santa María, Facultad De Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas Y Biotecnológicas, Arequipa, Perú. 2013. pp. 11-25. [Consulta: 03 abril 2021] Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3870>

RODRÍGUEZ LANDA, F.J., HERNÁNDEZ LOZANO, M. & MÉNDEZ VENTURA, L.M.
Manual De Prácticas De Farmacognosia. [Blog]. Xalapa, Veracruz, 2020. [Consulta: 12 junio 2021] Disponible en: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/guia-de-farmacognosia.pdf>

ROMERO FERNANDEZ, W., BATISTA CASTRO, Z., DE LUCCA, M., RUANO, A., GARCÍA-BARCELÓ, M., RIVERA-CERVANTES, M., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J. & SÁNCHEZ-MATEOS, S. 2016. "El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio". *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Publica*, [en línea] 2016, (Perú) 33 (2), pp. 288-299. ISSN: 1726-4642. [Consulta:13 mayo 2021] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36346797015>

RUBIO TAIPE, Patricia Nataly. 2015. diseño y elaboración de un lipo gel antiinflamatorio de *Baccharis teindalensis* Kunt. (chilca) (Trabajo De Titulación) [en línea] Universidad Central Del Ecaudor, Facultad De Ciencias Químicas, Quito, Ecuador. 2013. pp. 2-4. [Consulta: 03 abril 2021] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1769>

SÁNCHEZ, Eugenia María. Antioxidantes consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de entre 65 y 75 años con dislipedemia (Trabajo De Titulación) [en línea] Universidad Abierta Interamericana, Facultad De Medicina Y Ciencias De La Salud. 2013. p. 12. [Consulta: 12 agosto 2021]. Disponible en: <https://docplayer.es/17024738-antioxidantes-consumo-de-antioxidantes-naturales-en-adultos-mayores-de-entre-65-y-75-anos-con-dislipidemia.html>

SANTOS CUBIAS, Hipatia De La Cruz. Malezas comunes de el salvador (Trabajo De Titulación) [en línea] Universidad De El Salvador, Facultad De Ciencias Agronómicas, El Salvador. 2004. p. 22. [Consulta: 12 abril 2021]. Disponible en: <https://fdocuments.net/reader/full/universidad-de-el-salvador-facultad-de-ciencias-riuesedusv16731-borreria.html>

SANTOS, R.F., NUNES, B.M., SÁ, R.D., SOARES, L.A.L. Y RANDAU, K.P. "Morpho-anatomical study of *Ageratum conyzoides*". *Brazilian Journal Of Pharmagognosy*, [en línea], 2016, (Brazil) 26 (6), pp. 679-687. ISSN: 1981528x. [Consulta: 12 abril 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X16302356>

SOSA, J., Carragenina: Un Ingrediente Natural. [Blog]. *Granotec*, 2019. [Consulta: 12 agosto 2021]. Disponible en: https://www.redalimentaria.com/blog/carragenina-un-ingrediente-natural-de-multiples-usos-en-la-fabricacion-de-alimentos_7019

SULTANA, M., KUMAR P., RAINA, R., PRAWEZ, S. & DAR, M.A. "quantitative analysis of total phenolic, flavonoids and tannin contents in acetone and N-hexane extracts of

- Ageratum conyzoides*". *International Journal Of Chemtech Research*, [en línea], 2012, (India) 4(3), pp. 996-999. ISSN: 0974-4290. [Consulta: 12 julio 2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230817741_Quantitative_Analysis_of_Total_Phenolic_Flavonoids_and_Tannin_Contents_in_Acetone_and_n-hexane_Extracts_of_Ageratum_conyzoides
- TRUEBA, G.P.** "Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes". *Revista Cubana De Investigaciones Biomedicas*, [en línea], 2003, (Cuba) 22 (1), pp. 48-57. ISSN: 1561-3011. [Consulta: 22 mayo 2021]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0864-03002003000100007
- VALVERDE BALLADARES, Priscilla Valeria.** Composición química, potencial antimicrobiano y letal de los aceites esenciales de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), mastrante (*Ageratum conyzoides*), guabiduca (*Piper carpunya*), ajeno (*Artemisia absinthium*) y cedrón (*Lippia citriodora*), cultivados en la república del Ecuador. [en línea] (Trabajo De Titulación). Universidad Técnica De Machala, Unidad Académica De Ciencias Químicas Y De La Salud. Machala, Ecuador. 2015. pp. 5-6. [Consulta: 11 mayo 2021]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2799>
- VEGA, G.** "Inflamación". *Rev Fac Med Unam* [en línea], 2008, (México) 51 (5), pp. 220-222. [Consulta: 03 mayo 2021]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/5258776/inmunolog%3%ada-para-el-m%3%a9dico-general>
- VILLACRÉS VILLACRÉS, Gabriela Elevación.** Evaluación De La Actividad Insecticida Del Extracto Acuoso De Molle (*Schinus Molle* L.) Frente Al Gusano Blanco De La Papa (*Premnotrypes vorax hustache*). [en línea] (Trabajo De Titulación). Universidad Técnica De Ambato, Facultad De Ciencias Agropecuarias. Cevallos, Ecuador. 2017. pp. 27-28. [Consulta: 10 abril 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/25711>
- VILLALBA HERRERA, E.W.** "Inflamación I" . *Revista De Actualización Clínica* [en línea], 43 (1), pp. 2261-2265. [Consulta: 04 mayo 2021]. Disponible en: Https://Www.Academia.Edu/38821014/Inflamacion_I
- VILLASEÑOR, J.L.** "Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México". *Botanical Sciences* [en línea], 2018, (México) 96 (2), pp. 332-358. ISSN: 2007-4476. [Consulta: 26 abril 2021]. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s2007-42982018000200332

VINUEZA, D.R., LÓPEZ, E., ACOSTA, K. Y ABDO, S. "Assessment of anti-inflammatory activity and cytotoxicity of freeze dried hydroalcoholic extract of *Bidens andicola* on isolated neutrophils". *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research* [En Línea], 2017, (Ecuador) 10 (6), pp. 160-163. ISSN: 24553891. [Consulta: 05 julio 2021]. Disponible en: <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/17574>

ZAMORA RODRÍGUEZ, Z., MOLINA, V., MENA, L. Y NODAL, C. "Efecto anti-inflamatorio de la terapia combinada del D-002 Y Lyprinol en un modelo de inflamación crónica". *Revista Cenic. Ciencias Biológicas* [En Línea], 2017, (Cuba) 48 (1), pp. 6-11. ISSN: 0253-5688. [Consulta: 22 abril 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181249883002>

ZARAGOZANO, J.F. "Lepra : aspectos clínicos y tratamiento". *Medicina Integral* [En Línea], 2001, (España) 38 (7), pp. 309-314. [Consulta: 06 agosto 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-lepra-aspectos-clinicos-tratamiento-13022408>

ZURITA SANCHEZ, Bryan Omar. Determinación de la actividad antiinflamatoria de la planta *Roupala montana* Aubl. mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratones (*Mus musculus*). (Trabajo De Titulación) [En Línea] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad De Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2019. pp. 27-38. [Consulta: 17 septiembre 2021]. Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/13801>

ANEXOS

ANEXO A. PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL (*Ageratum conyzoides*)



Gráfico 1A: Secado de la planta



Gráfico 2A: Planta seca y molida

ANEXO B. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA



Gráfico 1B. Determinación de humedad



Gráfico 2B. Determinación de cenizas totales



Gráfico 3B. Cenizas solubles en agua



Gráfico 4B. Cenizas insolubles en HCl

ANEXO C. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS DE LA MATERIA VEGETAL CRUDA



Gráfico 1C. Extracto etéreo



Gráfico 2C. Extracto etanólico



Gráfico 3C. Extracto acuoso



Gráfico 4C: Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo



Gráfico 5C: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico



Gráfico 6C: Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso

ANEXO D. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



Gráfico 1D. Determinación del pH



Gráfico 2D. Densidad relativa



Gráfico 3D. Índice de refracción



Gráfico 4D. Solidos totales

ANEXO E. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Ageratum conyzoides*



Gráfico 1E. Maceración



Gráfico 2E. Concentración



Gráfico 3E. Liofilización



Gráfico 4E. Extracto liofilizado

ANEXO F. CUANTIFICACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES TOTALES



Gráfico 1F. Cuantificación de fenoles



Gráfico 2F. Cuantificación de flavonoides

ANEXO G. ELABORACIÓN DEL GEL



Gráfico 1G. Formulación del gel



Gráfico 2G. Gel a diferentes concentraciones

ANEXO H. INDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUPPLANTAR CON CARRAGENINA EN *Mus musculus*



Gráfico 1H. Preparación de carragenina



Gráfico 2H. Inducción del edema suplantar



Gráfico 3H. Pata de ratón inflamada

ANEXO I. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VIVO*



Gráfico 1I. Medición de la pata del ratón



Gráfico 2I. Aplicación de los geles

ANEXO J. CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL



Ofc.No.024.CHEP.2021

11 de agosto del 2021

A QUIEN CORRESPONDA:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que la señorita Mainato Coello Karla Mireya con CI: 0605501428, tesista de la carrera Bioquímica y Farmacia, se identificó *Ageratum conyzoides* L. Esta especie es de amplia distribución e introducida, esta información se revizó en el herbario y registros, se archivaré en el lapso de un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y la interesada puedo usar el presente certificado como crea conveniente

Atte.

JORGE
MARCELO
CARANQUI
ALDAZ

Firmado
digitalmente por
JORGE MARCELO
CARANQUI ALDAZ
Fecha: 2021.08.11
12:07:47 -05'00'

Ing. Jorge Caranqui Msc.
BOTANICO
HERBARIO ESPOCH

HERBARIO POLITECNICO
FACULTAD DE
RECURSOS
NATURALES

ANEXO K. AUTORIZACIÓN DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES VEGETALES



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA No. 1400

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

2.- CÓDIGO

MAAE-ARSFC-2021-1400

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2021-09-24	2022-03-24

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Plantae

El Ministerio del Ambiente y Agua, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C./Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
0603945403	QUISPILLO MOYOTA JOHN MARCOS	Ecuatoriana	1002-2017-1804104	Docente ocasional	Magnoliopsida
0605501428	MAINATO COELLO KARLA MIREYA	Ecuatoriana	3027645	Estudiante	Magnoliopsida

6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA:

Nombre del Proyecto: Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico *Ageratum conyzoides* L. en ratones *Mus musculus*

7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:

Evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Ageratum conyzoides</i> L. en ratones <i>Mus musculus</i>
Evidenciar el efecto antiinflamatorio de los geles elaborados con extractos de <i>A. conyzoides</i> L. en ratones <i>Mus musculus</i> con edema suplantar inducido.
Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de <i>A. conyzoides</i> mediante un tamizaje fitoquímico
Elaborar geles a diferentes concentraciones a base de los extractos hidroalcohólicos de <i>A. conyzoides</i> L.

8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
CHIMBORAZO	NA	NA

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Magnoliopsida	Asterales	Asteraceae	<i>Ageratum</i>	<i>Ageratum conyzoides</i>	hojas, tallos flores	3	

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	La especie vegetal <i>Ageratum conyzoides</i> se recolectará en la Parroquia Achupallas, en el cantón Alausí, localizadas específicamente en las coordenadas geográficas: Latitud (Y): -2.2827529907; Longitud (X): -78.7678909302 y Altitud: 3600 m.s.n.m.
FASE DE PRESERVACIÓN:	La especie vegetal <i>Ageratum conyzoides</i> abunda en la zona, por lo que no existe posibilidad de que la especie desaparezca

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Se utilizó las partes aéreas de la planta <i>A. conyzoides</i> (hojas y flores). La planta fue secada en una estufa a 45°C de temperatura durante 24 horas, luego fue triturada en un molino marca Arthur H, Tomas. C.O hasta obtener pequeñas partículas; esto fue usado para verificar parámetros de calidad de la froga cruda, obtención de extractos (etéreo, alcohólico y acuoso) para realizar el tamizaje fitoquímico, obtención del extracto hidroalcohólico para la elaboración de los geles. La planta triturada fue almacenada en fundas ziploc® y selladas herméticamente.
---------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCION.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Magnoliopsida	EQUIPOS PARA RECOLECCIÓN , ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE	Equipo en Laboratorio
Magnoliopsida	INCLUYE: GPS, LIBRETA DE APUNTES, CÁMARA FOTOGRÁFICA, FUNDAS PLÁSTICAS, GUANTES, MASCARILLAS. ENTRE LOS EQUIPOS SE PREVÉ EL USO DE UN CROMATÓGRAFO, ROTAVAPOR, LIOFILIZADOR.	Equipo en Laboratorio

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Magnoliopsida	Herbario Escuela superior Técnica del Chimborazo
---------------	--------------------------------------------------

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Efecto antiinflamatorio de los geles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides*

15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Resultado 04.18 Ecuador ha establecido un régimen de protección, preservación y promoción del conocimiento tradicional, los saberes ancestrales y expresiones culturales tradicionales pertinentes para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad.	El estudio se fundamenta en buscar nuevas alternativas terapéuticas antiinflamatorias, con el fin de reducir costos, evitar efectos secundarios de ciertos medicamentos, etc. Bajo estos criterios se pretende aprovechar ciertos recursos naturales, siempre y cuando se conserve la biodiversidad del Ecuador

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

- Solicitud de: **MAINATO COELLO KARLA MIREYA**
- Institución Nacional Científica : **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**
- Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2022/03/09**
- Valoración técnica del proyecto: **LATORRE HURTADO ERIKA GABRIELA**
- Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**
- Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS**

Y HONGOS, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

7. Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de **BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.**

8. Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

9. Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del ministerio del ambiente y agua, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
- Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
- Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).

10. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio del Ambiente y Agua, con el que se recolecto el material biológico.

11. Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.

12. Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

13. Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

14. Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

responsabiliza a **MAINATO COELLO KARLA MIREYA.**

DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD
LAGLA CHIMBA BYRON ADRIAN
2021-08-18

ANEXO L. PERMISO DE MOVILIZACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

AUTORIZACION DE MOVILIZACIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES DE LA DIVE AUTORIZACION DE RECOLECTA



GUÍA N°. 00187
CÓDIGO: MAAE-ARSFC-2021-1400

DATOS DEL SOLICITANTE

N. Identificación: 0605501428
Nombres: MAINATO COELLO KARLA MIREYA

DATOS DEL RESPONSABLE DE LAS MUESTRAS O ESPECÍMENES A TRANSPORTAR

Nº de C.I / Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Transportista
0603945403	QUISPILO MOYOTA JOHN MARCOS	Ecuatoriana	No
0605501428	MAINATO COELLO KARLA MIREYA	Ecuatoriana	Si

ORIGEN

Provincia
CHIMBORAZO

Tipo de Transporte: Terrestre

DESTINO

Provincia	Cantón	Parroquia
CHIMBORAZO	RIOBAMBA	RIOBAMBA

Centro de Tenencia: Herbario Escuela superior Técnica del Chimborazo

FECHA DE MOVILIZACIÓN

Desde: 2021-08-19	Hasta: 2021-08-19
-------------------	-------------------

MATERIAL BIOLÓGICO A MOVILIZAR

Especie	Tipo de Muestra	Número Muestra	Lote Muestra
Plantae-Asterales- Magnoliopsida-Ageratum- Ageratum conyzoides	hojas, tallos flores	3	N/A



UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 18 / 04 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Karla Mireya Mainato Coello</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Bioquímica y Farmacia</i>
Título a optar: <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Número de reconocimiento (DN):
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL
ECUADOR, ou=INTERNO DE
CERTIFICACION DE INFORMACION,
Escriba el nombre de la entidad
certificadora, cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.14 15:55:32 -0500



0653-DBRA-UTP-2022