



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
LAS HOJAS DE *Sigesbeckia serrata*, EN RATONES (*Mus musculus*)**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: DANNY HASSON LLANGA HUARACA

DIRECTOR: BQF. JOHN MARCOS QUISPILLO MOYOTA, Mgs.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Danny Hasson Llanga Huaraca**

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

Yo, DANNY HASSON LLANGA HUARACA, declaro que el presente trabajo de integración curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos del documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de integración curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 14 de abril de 2022

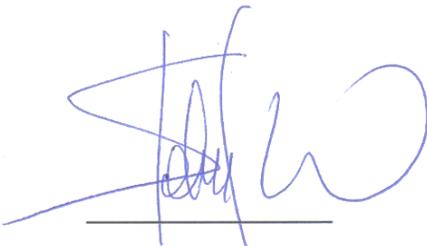
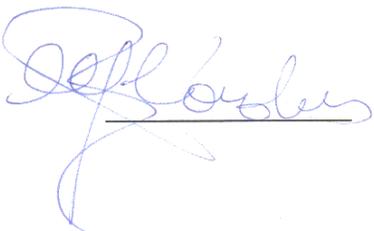
A handwritten signature in blue ink, consisting of the name 'Hasson Llanga' written in a cursive style. The signature is enclosed within a horizontal oval shape, with a long horizontal line extending from the right side of the oval.

Danny Hasson Llanga Huaraca

060436464-6

ESCUELA SUPERIRO 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 LAS HOJAS DE *Sigesbeckia serrata*, EN RATONES (*Mus musculus*)**, realizado por el señor: **DANNY HASSON LLANGA HUARACA**, 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. Byron Stalin Rojas Oviedo, Mgs. DELEGADO DEL TRIBUNAL		2022-04-14
BQF. John Marcos Quispillo Moyota, Mgs. DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-04-14
Dra. Margarita del Carmen Cárdenas Badillo, Msc. MIEMBRO DE TRIBUNAL		2022-04-14

DEDICATORIA

Este trabajo va en nombre de mis padres Luis Aníbal Llanga y María Nicolasa Huaraca, quienes fueron los pilares fundamentales para alcanzar esta meta académica gracias al apoyo y amor incondicional que me han demostrado, ayudando a forjar el camino para llegar a convertirme en un profesional Bioquímico Farmacéutico.

Danny

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios que puso en mi camino obstáculos que me permitieron crecer como persona y como profesional, además de mantenerme con vida y salud para cumplir mi meta.

A mis padres que a pesar de las adversidades que se encontraron en el camino, vieron la manera para seguirme apoyando para poder terminar la carrera universitaria.

A mi hermano Kristian Llanga, que desde el inicio de mi carrera fue y es un modelo a seguir, tanto en lo profesional, ético, moral y sobre todo como persona, que gracias a su apoyo y consejo me motivo a no rendirme hasta cumplir mi meta de ser un profesional Bioquímico Farmacéutico.

A Benjamín Andrés Román, persona, técnico docente y sobre todo gran amigo, que desde el inicio de la carrera estuvo inculcándome valores como la responsabilidad, puntualidad, sinceridad, respeto, humildad, lealtad, y solidaridad. Gracias amigo.

A John Quispillo, un excelente docente, tutor y sobre todo investigador, que me ha inculcado la pasión a la investigación desde los primeros años de mi carrera universitaria. Gracias por los conocimientos compartidos amigo John.

Danny

TABLA DE CONTENIDOS

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

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Género <i>Sigesbeckia</i>	5
1.2. Planta <i>Sigesbeckia serrata</i>	6
1.2.1. <i>Nombres comunes</i>	6
1.2.2. <i>Sinónimos</i>	6
1.2.3. <i>Taxonomía</i>	6
1.2.4. <i>Descripción botánica</i>	6
1.2.5. <i>Distribución geográfica</i>	7
1.2.6. <i>Hábitat</i>	7
1.2.7. <i>Usos etnobotánicos</i>	7
1.3. Inflamación	8
1.3.1. <i>Definición</i>	8
1.3.2. <i>Manifestaciones clínicas</i>	9
1.3.3. <i>Clasificación</i>	9
1.3.4. <i>Fases de la inflamación</i>	10
1.3.4.1. <i>Liberación de mediadores</i>	10
1.3.4.2. <i>Efectos de los mediadores</i>	11
1.3.4.3. <i>Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio</i>	12
1.3.4.4. <i>Regulación de la respuesta inflamatoria</i>	13
1.3.4.5. <i>Reparación</i>	14

1.4.	Fármacos antiinflamatorios	14
1.4.1.	<i>Antiinflamatorios no esteroides (AINEs)</i>	14
1.4.2.	<i>Antiinflamatorios esteroides (corticoides)</i>	15
1.5.	Flavonoides	15
1.5.1.	<i>Biosíntesis de los flavonoides</i>	16
1.5.2.	<i>Clasificación de los flavonoides</i>	17
1.5.3.	<i>Propiedades farmacológicas</i>	17
1.6.	Experimentación animal	17
1.6.1.	<i>Animales de experimentación</i>	17
1.6.2.	<i>Ratones <i>Mus musculus</i> L</i>	18
1.7.	Gel	18
1.7.1.	<i>Clasificación</i>	19
1.8.	Análisis de laboratorio	19
1.8.1.	<i>Pruebas en droga cruda</i>	19
1.8.2.	<i>Ensayos de tamizaje fitoquímico</i>	19
1.8.3.	<i>Pruebas en extracto hidroalcohólico</i>	20
1.8.4.	<i>Actividad antiinflamatoria</i>	20

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	21
2.1.	Lugar de investigación	21
2.2.	Diseño de estudio	21
2.3.	Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo de muestra ... 21	
2.3.1.	<i>Criterios de inclusión</i>	21
2.3.2.	<i>Criterios de exclusión</i>	21
2.4.	Hipótesis	22
2.5.	Materiales, equipos y reactivos	22
2.5.1.	<i>Material vegetal</i>	22
2.5.2.	<i>Material biológico</i>	22
2.5.3.	<i>Material farmacológico</i>	22
2.5.4.	<i>Materiales de laboratorio</i>	23
2.5.5.	<i>Equipos de laboratorio</i>	24
2.5.6.	<i>Reactivos de laboratorio</i>	24

2.6.	Técnicas y métodos	25
2.6.1.	Recolección del material vegetal	25
2.6.2.	Verificación del material vegetal	25
2.6.3.	Control de calidad de la droga vegetal cruda	26
2.6.3.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	26
2.6.3.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	26
2.6.3.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	27
2.6.3.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	28
2.6.4.	Obtención de los extractos	29
2.6.5.	Tamizaje Fitoquímico	30
2.6.5.1.	<i>Ensayo de Sudán</i>	31
2.6.5.2.	<i>Ensayo de Dragendorff</i>	31
2.6.5.3.	<i>Ensayo de Mayer</i>	32
2.6.5.4.	<i>Ensayo de Wagner</i>	32
2.6.5.5.	<i>Ensayo de Baljet</i>	32
2.6.5.6.	<i>Ensayo de Libermann-Burchard</i>	33
2.6.5.7.	<i>Ensayo de Catequinas</i>	33
2.6.5.8.	<i>Ensayo de Resinas</i>	33
2.6.5.9.	<i>Ensayo de Fehling</i>	34
2.6.5.10.	<i>Ensayo de la Espuma</i>	34
2.6.5.11.	<i>Ensayo de Cloruro férrico</i>	34
2.6.5.12.	<i>Ensayo de Borntrager</i>	35
2.6.5.13.	<i>Ensayo de la Ninhidrina</i>	35
2.6.5.14.	<i>Ensayo de Antocianidinas</i>	35
2.6.5.15.	<i>Ensayo de Shinoda</i>	35
2.6.5.16.	<i>Ensayo de Mucílagos</i>	36
2.6.5.17.	<i>Ensayo de principios amargos y astringentes</i>	36
2.6.6.	Preparación del extracto hidroalcohólico	36
2.6.7.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico	36
2.6.7.1.	<i>Determinación de características organolépticas</i>	37
2.6.7.2.	<i>Densidad relativa</i>	37
2.6.7.3.	<i>Índice de refracción</i>	37
2.6.7.4.	<i>pH</i>	37
2.6.7.5.	<i>Sólidos totales</i>	38

2.6.8.	<i>Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu</i>	38
2.6.9.	<i>Cuantificación de flavonoides mediante el método colorimétrico</i>	38
2.6.10.	<i>Formulación del gel</i>	39
2.6.10.1.	<i>Excipientes para la formulación</i>	39
2.6.10.2.	<i>Método de preparación</i>	39
2.6.11.	<i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria</i>	39
2.6.11.1.	<i>Análisis estadístico</i>	40

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	42
3.1.	Identificación de la planta	42
3.2.	Control de calidad de droga cruda	42
3.3.	Tamizaje Fitoquímico	43
3.4.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico	44
3.5.	Cuantificación de fenoles totales	45
3.6.	Cuantificación de flavonoides totales	46
3.7.	Preparación de gel	47
3.8.	Actividad antiinflamatoria in vivo	47
3.9.	Análisis estadístico	50

	CONCLUSIONES	53
--	---------------------------	----

	RECOMENDACIONES	54
--	------------------------------	----

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Materiales utilizados en el laboratorio.....	23
Tabla 2-2:	Equipos utilizados en el laboratorio.	24
Tabla 3-2:	Reactivos utilizados en el laboratorio.....	24
Tabla 1-3:	Control de calidad de droga cruda <i>S. serrata</i>	42
Tabla 2-3:	Tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>S. serrata</i>	43
Tabla 3-3:	Características organolépticas.....	44
Tabla 4-3:	Características fisicoquímicas del extracto.....	44
Tabla 5-3:	Cuantificación de fenoles totales.....	45
Tabla 6-3:	Cuantificación de flavonoides totales.....	46
Tabla 7-3:	Concentración de los componentes de los diferentes geles.	47
Tabla 8-3:	Porcentaje de inflación en diferentes tiempos de medición.	48
Tabla 9-3:	Test de ANOVA para los porcentajes de mediciones de los tratamientos.....	50
Tabla 10-3:	Análisis estadístico de medias del Test de Tukey.	50
Tabla 11-3:	Prueba simultanea de Tukey para Diferencia de Medias.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Planta <i>Sigesbeckia serrata</i>	6
Figura 2-1:	Síntesis biogénica de los flavonoides.	16
Figura 1-2:	Protocolo de extracción de metabolitos para el tamizaje fitoquímico.	29
Figura 2-2:	Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto etéreo.	30
Figura 3-2:	Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólico.	30
Figura 4-2:	Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto acuoso.	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3. Porcentaje de inflamación.....	49
Gráfico 2-3. Gráfica de Intervalos de Inflamación.	52

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** SECADO Y MOLIENDA DE LA PLANTA
- ANEXO B:** CONTROL DE CALIDAD A LA DROGA CRUDA
- ANEXO C:** TAMIZAJE FITOQUÍMICO
- ANEXO D:** PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
- ANEXO E:** CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
- ANEXO F:** CUANTIFICACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES
- ANEXO G:** FORMULATION DEL GEL
- ANEXO H:** EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
- ANEXO I:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO
- ANEXO J:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE QUERCETINA
- ANEXO K:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTINFLAMATORIA
- ANEXO L:** CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DEL HERBARIO
- ANEXO M:** AUTORIZACIÓN DE RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN *Sigesbeckia serrata*.
- ANEXO N:** AUTORIZACIÓN DE MOVILIZACIÓN DEL ESPÉCIMEN *Sigesbeckia serrata*.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AINEs:	Antiinflamatorios no Esteroideos
APS:	Atención Primaria de Salud
COX:	Ciclooxigenasa
ECF:	Factor quimio táctico de eosinófilos
IL:	Interleucina
Ig:	Inmunoglobulina
LT:	Leucotrienos
MHRA:	Agencia Reguladora de Medicamentos y Productos Sanitarios del Reino Unido
NF-κB:	Factor de Transcripción Nuclear Kappa B
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PAF:	Factor activador de plaquetas
PCR:	Proteína C Reactiva
PG:	Prostaglandinas
Receptor H:	Receptor de Histamina
<i>S. serrata:</i>	<i>Sigesbeckia serrata</i>

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata*. Una vez verificada y recolectada la planta se secó y trituró 600g de hojas pre seleccionadas para realizar el control de calidad de la droga cruda y preparar los extractos para el tamizaje fitoquímico, con la fracción hidroalcohólica concentrada y liofilizada se procedió a realizar la cuantificación de fenoles y flavonoides, para preparar los geles a formulaciones del 5%, 10% y 20% se utilizó la combinación del extracto hidroalcohólico con diversos excipientes, para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se utilizaron 36 ratones *Mus musculus* a los cuales se les indujo un edema plantar con carragenina 1%, una vez producida la inflamación y aplicado el tratamiento respectivo se midió la pata derecha posterior durante un periodo de 7 horas. En el tamizaje fitoquímico se encontraron metabolitos secundarios como: alcaloides, saponinas, aminoácidos, taninos, fenoles y flavonoides, siendo estos dos últimos cuantificados con un 16,28% y 24,42% respectivamente, los geles aplicados de forma subcutánea en la zona plantar ayudaron en el proceso antiinflamatorio reduciendo el edema según el periodo de investigación, mediante los análisis estadísticos se comprobó que los diferentes tratamientos dependen de la concentración del extracto en el gel para producir el efecto antiinflamatorio. Se concluye que realizar los geles fue viable gracias a que la parte hidroalcohólica es compatible con los excipientes, lo que permite vehiculizar el extracto, además que el gel al 20% presenta mayor actividad con respecto a los demás geles siendo una alternativa potencial de tratamiento dérmico en procesos inflamatorios. Se recomienda complementar los estudios in vivo utilizando otros métodos para determinar los diferentes tipos de actividades farmacológicas con el fin de realizar un fitofármaco.

Palabras clave: <ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA>, <FLAVONOIDES>, <EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO>, <SACHA JÍCAMA (*Sigesbeckia serrata*)>, <EDEMA PLANTAR>, <TAMIZAJE FITOQUÍMICO>, <ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA>, <FITOFÁRMACO>.

LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Número de reconocimiento: (DN: c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO, serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.19 10:06:04 -05'00'



0715-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The aim of the research was to evaluate the in vivo anti-inflammatory activity of a gel made of hydroalcoholic extract of *Sigesbeckia serrata* leaves. Once the plant was verified and collected, 600g of pre-selected leaves were dried and crushed to carry out the quality control of the crude drug and prepare the extracts for the phytochemical screening, with the concentrated and lyophilized hydroalcoholic fraction, the phenolics and flavonoids quantification was carried out, to prepare the gels at formulations of 5%, 10% and 20%, the combination of the hydroalcoholic extract with various excipients was used, for the evaluation of the anti-inflammatory activity, 36 *Mus musculus* mice were used, in which a paw edema was induced with 1% carrageenan, once the inflammation had occurred and the respective treatment had been applied, the posterior right paw was measured for a period of 7 hours. In the phytochemical screening, secondary metabolites were found such as: alkaloids, saponins, amino acids, tannins, phenols and flavonoids, the latter two were quantified with 16.28% and 24.42% respectively, the gels applied subcutaneously in the plantar area helped in the anti-inflammatory process by reducing edema according to the period of investigation, through statistical analysis it was found that the different treatments depend on the extract concentration in the gel to produce the anti-inflammatory effect. It is concluded that making the gels was feasible thanks to the fact that the hydroalcoholic part is compatible with the excipients, which allows the extract to be transported, in addition, the 20% gel presents greater activity with respect to the other gels, being a potential alternative for dermal treatment in inflammatory processes. It is recommended to complement the in vivo studies using other methods to determine the different types of pharmacological activities in order to make a phytopharmaceutical drug.

Keywords: <ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY>, <FLAVONOIDS>, <HYDROALCOHOLIC EXTRACT>, <SACHA JÍCAMA (*Sigesbeckia serrata*)>, <PAW EDEMA>, <PHYTOCHEMICAL SCREENING>, <PHARMACOLOGICAL ACTIVITY>, <PHYTOPHARMACEUTICAL DRUG>.

EDISON
HERNAN
SALAZAR
CALDER
ON

Firmado digitalmente por EDISON HERNAN SALAZAR CALDERON
Fecha: 2022.04.26 23:14:07 -05'00'

INTRODUCCIÓN

La importancia que tiene la medicina tradicional, fue reconocida en 1978 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) durante la Asamblea General sobre Atención Primaria de Salud (APS), con el fin de integrarla dentro de los sistemas oficiales. De ahí la necesidad de buscar nuevas moléculas de plantas de origen local y que sean usadas de forma tradicional, encontrando al género *Sigesbeckia* como una de ellas, existiendo información científica preliminar de las propiedades que posee y avala su eficacia y eficiencia, como se describen a continuación.

En 2015, los extractos conocidos de las hojas de diferentes tipos de *Sigesbeckia* cuenta con un uso longevo como medicina tradicional en diferentes continentes como Asia, África, Europa y América. Estos extractos se autorizaron por medio de la Agencia Reguladora de Medicamentos y Productos Sanitarios del Reino Unido (MHRA), como principios activos de venta libre, los cuales tratan diversos tipos de dolores como: dolor de espalda, dolor articular y dolor muscular, también es muy útil para el tratamiento de lesiones deportivas menores, (Austin, 2012, p.292).

Zhang et al., (2018: pp.1-10), en Sur América la *Sigesbeckia* es utilizada en infusión, decocción, machacada o en agua de remedio, en combinación o no con otras plantas, para tratar patologías como la artritis reumatoide, dolores reumáticos, dolor de espalda y ciática.

Según De la Torre et al., (2008: pp.13-27) dentro de Ecuador, en comunidades de las provincias de Loja y Carchi, la *Sigesbeckia serrata* es una planta de mucho interés terapéutico ya que se utiliza dentro de la práctica de medicina tradicional para contrarrestar el dolor y la inflamación, especialmente de origen reumático. Registros etnomedicinales ecuatorianos, mencionan que también se puede utilizar para el tratamiento de quemaduras y diarrea. Una de las principales propiedades atribuidas a esta planta es la disminución de incidencias en problemas inflamatorios y los efectos adversos derivados del mal uso de AINEs.

El estudio realizado in vitro por Rivera (2015: pp.41-52), concluye que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Sigesbeckia serrata* poseen una muy buena capacidad antiinflamatoria a 1000 ppm de concentración además, posee una buena capacidad citotóxica la cual se expresa como viabilidad celular, definiendo que la capacidad que presenta el extracto hidroalcohólico de hojas de *Sigesbeckia serrata* depende principalmente de la concentración del mismo.

Según Hong et al., (2014: p.10), el extracto etanólico de *Sigesbeckia orientalis* en un estudio realizado in vivo establece el importante efecto en los inhibidores de la inflamación aguda local y sistémica, mientras que el mismo estudio realizado in vitro revelan que el extracto etanólico de *Sigesbeckia orientalis* actúa como bloqueador de la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF-

κ B), produciendo la inhibición en la inducción de la expresión de óxido nítrico sintasa y de la liberación de inflamaciones citoquinas.

En la actualidad, el uso prolongado que le han dado las personas a los AINEs para el tratamiento de inflamaciones tópicas, se encuentra muy relacionado a la aparición de una serie de efectos adversos: Dos semanas después del tratamiento farmacológico la epidermis disminuye el grosor de en el lugar de la inflamación, se produce un blanqueamiento en la zona afectada por la inhibición de los melanocitos, produce estrías irreversibles por atrofia dérmica en las fibras elásticas, por la formación de hematomas con micro traumatismos produce fragilidad cutánea, se evidencia la presencia de acné en la zona en la que se aplicó el tratamiento farmacológico, el tiempo de cicatrización de las heridas y glaucoma es más demoroso, cuando el tratamiento se aplican cerca del ojo produce cataratas (Benedí y Romero, 2016: pp.58-63).

Por lo tanto, en consideración de las diversas reacciones adversas que aparecen tras el uso prolongado de tratamientos con fármacos antiinflamatorios sintéticos, una solución viable sería la búsqueda e investigación de nuevas estructuras y compuestos que tengan buena efectividad pero baja toxicidad y mejor tolerabilidad, por lo cual una fuente importante de candidatos terapéuticos serían las plantas y otros derivados naturales que tenemos en nuestro país (Rodríguez et al., 2017: pp.2-7).

En la actualidad, en Ecuador la mayoría de tratamientos antiinflamatorios se basan principalmente en fármacos de origen sintético, de los cuales se conoce según bases de datos que la mayor cantidad de unidades de AINEs expendidos corresponden a la automedicación adquirida en farmacias comunitarias, además de una administración en la mayoría de casos innecesaria para la patología, a dosis poco seguras y en frecuencias de administración muy inestables, estos factores aumentan la incidencia de sus efectos no deseados produciendo mayor índice de toxicidad. La población nacional ha trivializado a muchos de los antiinflamatorios más comunes, ya sea por la falta de control en la dispensación desde las farmacias y organismos de control sanitario, así como también la poca educación de las personas al respecto de los tratamientos farmacológicos (Rivera, 2015, pp.41-52).

Al existir poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud, y poca demanda por parte de los consumidores, se busca formular nuevas formas farmacéuticas que proporcionen menores efectos adversos con estos tratamientos, para lograr este objetivo se necesita de conocimientos y experiencias ancestrales acumuladas en el tiempo de diferentes etnias y pueblos, y la concientización a las personas sobre los beneficios que posee la medicina natural, proponiendo a la medicina herbaria como la principal alternativa para la atención primaria de la salud (Gallegos, 2016, pp.327-332).

Desde tiempos de antaño se ha utilizado la medicina herbaria con el fin de curar y paliar diversos tipos de síntomas y enfermedades, esta medicina es llamada fitofármaco que son muy apreciados por

su bajo costo y sus reducidos índices de toxicidad a comparación con los medicamentos de origen sintético. Por esta razón es que en la actualidad se han generado numerosos estudios divulgados en prestigiosas publicaciones existiendo gran interés en la medicina tradicional (Pascual et al., 2015: pp.1467-1474).

Con ese objetivo, se realizó la formulación de un gel antiinflamatorio a diferentes concentraciones a base el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata*, para lo cual, su actividad antiinflamatoria fue probada *in vivo* en ratones de experimentación.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general

- Evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata*.

Objetivos específicos

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Sigesbeckia serrata* mediante un tamizaje fitoquímico.
- Elaborar geles a diferentes concentraciones en base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata*.
- Determinar la capacidad antiinflamatoria aplicando un edema plantar por inyección subcutánea de carragenina sobre ratones *Mus musculus*.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Género *Sigesbeckia*

Sigesbeckia es un género de plantas anuales o perennes de la familia *Asteraceae*, de las cuales se han descrito 44 especies y de estas solo 15 son aceptadas actualmente, tienen una amplia distribución en el mundo ya que 12 especies de estas se encuentra en los trópicos y subtrópicos de ambos hemisferios, siendo las más importantes y destacadas: *S. orientalis*, *S. pubescens*, *S. glabracens*, *S. jorullensis* y *S. serrata* (GCC, 2014, párr.3).

Estas especies tienen características únicas que las distinguen de otras plantas que crecen en su hábitat, por tener ramas cubiertas de pelos castaños; tallo cubierto de pelos color marrón violáceo, hojas triangulares opuestas en todo la planta, bordes dentados, ligeramente tupidos, sésiles en la parte superior; Tienen flores amarillas en forma de lengua que aparecen a finales del verano y principios del otoño (MHRA, 2015, párr.2).

El biólogo evolucionista SJ Gould, describe en relación con la terminología del género *Sigesbeckia*, que la taxonomía vegetal propuesta por primera vez por Linneo en 1730, se ha convertido en un punto muy importante para la educación popular en las ciencias naturales en el siglo XVIII, un importante tema cultural, justo cuando la ilustración invadió Europa.

Charles Linnaeus fue un botánico, médico y zoólogo sueco que formalizó el sistema de nomenclatura binomial de organismos en 1700. A través de su trabajo se convirtió en el padre de la taxonomía moderna. El sistema ideado por Linneo se basó en el número y la disposición de los órganos masculinos y femeninos en la flor, es decir, en los estambres y pistilos.

No todos compartieron la decisión de Linneo ya que se consideró antinatural, incluido el Papa que prohibió la exhibición de sus obras en la biblioteca del Vaticano. El científico de San Petersburgo Johann Georg *Sigesbeckia* quien era médico y botánico, argumento que el sistema es repugnante e inmoral, tratando de refutar la clasificación de Linneo basada en las características de los órganos biológicos de la educación, pero no pudo corroborar sus declaraciones con argumentos sólidos.

En su obra “Crítica Botánica” Linneo trató de transmitir que debería haber un vínculo entre la especie vegetal y el botánico que le dio su nombre. Por lo tanto, no es sorprendente que en el libro taxonómico “Hortus Cliffortianus” una pequeña hierba maloliente se llamara *Siegesbeckia*. Si bien algunos autores aún se refieren al género como *Siegesbeckia*, la ortografía correcta según “The Royal Botanical Gardens”, es *Sigesbeckia* (Pedraza et al., 2014: p.213).

1.2. Planta *Sigesbeckia serrata*

1.2.1. Nombres comunes

- **Argentina:** Yuta (Bardón, 2017, pp.227-231).
- **México:** flor de araña (Bagozzi, 2014, párr.3).
- **Chile:** Hierba de San Pedro (USDA, 2015, párr.4).
- **Guatemala:** pega pega, cuanahuatch (SIB, 2019, p.54).
- **Ecuador:** sacha jícama (De la Torre et al., 2008: pp.13-27).

1.2.2. Sinónimos

Sigesbeckia jorullensis, *Sigesbeckia mandonii*, *Polimnia odoratissima* (IBODA, 2013, pp.98-133).

1.2.3. Taxonomía

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Subfamilia: *Asteroideae*

Tribu: *Millerieae*

Género: *Sigesbeckia*

Especie: *Sigesbeckia serrata* DC

(Hanan y Mondragón, 2009: párr.6).



Figura 1-1: Planta *Sigesbeckia serrata*

Fuente: (GCC, 2014, párr.3).

1.2.4. Descripción botánica

Es una hierba anual, perenne, erecta y con raíces pivotantes, la planta puede alcanzar los 30 a 60 cm de altura, tiene un tallo con pelos erectos, fisurados (huecos), cubierto en el ápice por una capa de tricomas glandulares, tiene la particularidad de que cada eje de ramificación principal está dividido

en 2 ejes pequeños secundarios, presenta hojas simples, opuestas, sésiles en la parte superior y pecíolos en la parte inferior de forma triangular o lanceoladas con margen dentado puntiagudo, tres nervios prominentes conectados en la base, las hojas inferiores son grandes, las hojas superiores a veces pequeñas y glandulares con pelos en las intersecciones (Hanan y Mondragón, 2012: párr.4).

Presenta inflorescencia capitular ramificada a modo de cabezuelas dividida en capítulos pedunculados delgados, brácteas sin apéndices, pelos de 4 cm de largo que secretan un moco dulce y pegajoso con el fin de atraer a los insectos polinizadores. Las flores amarillas están dispuestas en un receptáculo en forma de flores monoicas. Presentan fruto ovalado y oblongo.

1.2.5. Distribución geográfica

Planta nativa de Suramérica. En el Ecuador se distribuye en Los Andes, entre 2000 a 3000 metros sobre el nivel del mar, en las provincias de Loja, Zamora Chinchipe, Tungurahua y Chimborazo. En Loja se encuentra registrada en Saraguro, Zapotillo y en Casanga del cantón Paltas (Brummitt, 2016, pp.56-72).

1.2.6. Hábitat

El género *Sigesbeckia* forma densos racimos en cultivos de ciclo corto, que compiten específicamente por el espacio y los nutrientes. Crece con sembríos de maíz, tomates, patatas, repollo y coliflor. Esta planta en su entorno natural es polinizada por insectos, los cuales en múltiples ocasiones quedan atrapados en los pelos glandulares de las brácteas, posteriormente son digeridos por enzimas y así la planta extrae nitritos y nutrientes, este es un mecanismo alternativo para que la planta pueda desarrollarse y sobrevivir. Se considera un hospedador del hongo *Oidium*, donde las hojas se vuelven amarillas y luego se secan. La *Sigesbeckia* crece como una mala hierba y la erradicación se logra con el deshierbe manual, que se realiza antes de que la planta fructifique (Aguirre et al., 2019: pp.75-76).

1.2.7. Usos etnobotánicos

En la medicina tradicional se utilizan varias especies de *Sigesbeckia*, como lo es la *S. orientalis*, *S. pubescens*, *S. glabracens*, *S. jorullensis* y *S. serrata*. Las partes aéreas de estas plantas se utilizan tradicionalmente para tratar enfermedades reumáticas como artritis, dolores articulares y musculares, dolores en la ciática, así como para también tratar la hipertensión y algunas formas de parálisis (Pascual et al., 2015: pp.1467-1474).

En China, en el año 659 d.C., la *S. orientalis* conocido como Xi Xian Cao en ese país, se utilizó para disipar la humedad inducida por el viento y para fortalecer los tendones, para curar el dolor causado por obstrucciones dolorosas de viento/calor/humedad. Xi Xian Cao generalmente se prescribe como una gran tableta de miel por métodos de decocción, cada una con un peso de 20 a 30 g, que contiene 9 g del extracto de *S. orientalis*. En la medicina moderna, estos métodos de producción son muy imprecisos y conllevan el riesgo de contaminación, el uso de una planta incorrecta o el uso de materiales vegetales de mala calidad (Gallegos, 2016, pp.327-332).

En Europa, la planta *Sigesbeckia orientalis* se conoce comúnmente como hierba de San Pablo, recetada en la medicina tradicional para aliviar las afecciones reumáticas y mejorar la movilidad de las articulaciones. El uso tradicional de esta planta es sola o en combinación con hierbas como: *Prunella vulgaris* o *Clematis chinensis*, administradas al paciente con la hierba seca como decocción (García, 2018, pp.214-216).

Actualmente, las medicinas tradicionales a base de plantas que se utilizan en Europa continental se rigen por la Directiva de Productos Medicinales Tradicionales a base de Plantas, que establece una serie de estrictos requisitos de calidad y seguridad que los fabricantes deben respetar y mantener para obtener una licencia de difusión del producto. También existen regulaciones para las varias formas de dosificación tradicionales, los medicamentos autorizados con licencias, están disponibles en forma de tabletas, las mismas que contienen extracto de *S. orientalis* en grado farmacéutico (García, 2018, pp.214-216).

En México, la *S. serrata* es conocida como la flor de la araña, y según numerosos estudios Etnobotánicos realizados en el estado de Hidalgo, la planta se utilizado tradicionalmente en infusión para tratar la presión alta y la diarrea (Escandón, 2013, p.60).

En Ecuador, la planta *Sigesbeckia serrata* es conocida como sacha jícama, la cual se ha utilizado tradicionalmente y desde tiempos ancestrales para contrarrestar el dolor y la inflamación, especialmente causado por el reumatismo. La literatura etnográfica mencionan que en la provincia de Loja se utiliza para tratar quemaduras e inflamaciones locales, y en la provincia de Carchi es útil en cuadros diarreicos (De la Torre et al., 2008: pp.13-27).

1.3. Inflamación

1.3.1. Definición

Es la respuesta del sistema inmunológico del organismo al daño causado en sus tejidos o células de los vasos sanguíneos, por bacterias o por cualquier otro agente de naturaleza física, química, biológica

y/o mecánica. La inflamación, aunque es una respuesta dolorosa, es reconstituyente a la lesión. Está involucrado en el gasto de energía metabólica, por lo que la inflamación no es una enfermedad, sino una respuesta inespecífica que conduce a un efecto favorable y saludable en el organismo (León et al., 2015: pp.47-62).

1.3.2. Manifestaciones clínicas

Según Rivas (2013, p.83), La inflamación se presenta por 4 manifestaciones clínicas consecutivas:

- a) Enrojecimiento o eritema, se produce por acumulación de sangre tras una vasodilatación previa y estancamiento de los vasos sanguíneos en la zona inflamada.
- b) Tumor o agrandamiento, que es el resultado de una acumulación de secreciones inflamatorias y sangre en el área donde ocurrió la lesión.
- c) Calor, generado por la vasodilatación, a este nivel se desarrolla el aumento del metabolismo.
- d) Dolor, que es producido por la irritación de las fibras nerviosas en la zona lesionada.

1.3.3. Clasificación

Dependiendo de la duración de la inflamación en el cuerpo, se divide en:

- **Inflamación aguda:** proporciona una respuesta inmediata al agente agresor para liberar mediadores protectores del cuerpo. Dentro del área de la lesión, tiene un inicio rápido y es de corta duración. Las características basales son exudación y proteína plasmática con formación de edema y migración de neutrófilos predominantemente al área afectada del cuerpo (Castro et al., 2014: pp.121-129).
- **Inflamación crónica:** se produce en un proceso prolongado que puede durar de semanas hasta años, con destrucción de los tejidos durante este tiempo, la inflamación se activa provocando intentos repetidos de reparación. La principal característica de este tipo de inflamación es la proliferación de vasos sanguíneos, que produce fibrosis y necrosis tisular (Castro et al., 2014: pp.121-129).

Según la naturaleza del líquido inflamatorio en el cuerpo, se divide en:

- **Trasudado.** Se caracteriza por la presencia de líquido extravascular con bajo contenido proteico en el líquido inflamatorio, producido por un ligero cambio en la permeabilidad vascular, lo que provoca un aumento de la presión hidrostática intravascular, facilitando el flujo

de líquidos y moléculas de bajo peso molecular del interior del vaso hacia el intersticio (Villalba, 2014, pp.261-265).

- **Exudado.** Se caracteriza por la presencia de líquido inflamatorio extravascular con un alto contenido proteico en el estado inflamatorio, se refiere a la existencia de una permeabilidad significativa en los vasos sanguíneos la cual se distingue por la formación de aberturas en la pared vascular por donde salen las células, proteínas y los líquidos, acumulándose en el espacio intersticial para formar un líquido rico en proteínas (Villalba Herrera, 2014, pp.261-265).

1.3.4. Fases de la inflamación

1.3.4.1. Liberación de mediadores

Cuando los tejidos se dañan durante la inflamación, liberan mediadores cuya fuente principal son los mastocitos que son células inmunes inespecíficas en la médula ósea. El mastocito contiene en su citoplasma gránulos con mediadores inflamatorios preformados, por eso, cuando se activa, libera estos factores, así como otros de naturaleza lipídica. Los mastocitos se detectan en la mayoría de los tejidos, ubicados principalmente alrededor de pequeños vasos, sobre los que actuarán los mediadores una vez liberados (Gallin, 2009, pp.721-733).

A medida que avanza el proceso inflamatorio, se acumulan suficientes factores del complemento activados (C3a y C5a) en el punto focal, que actúan sobre los receptores de membrana, provocando la activación de las células y liberando varios mediadores. Otro mecanismo de activación lo desarrolla la IgE, que se captura en la membrana de los mastocitos. El antígeno es lo que activa el mastocito cuando se conecta específicamente a dos IgE adyacentes en la membrana (Ishizaka, 2016, pp.34-45).

El mecanismo bioquímico comienza en la membrana con la activación del adenilato ciclasa y la fosfolipasa A₂. La adenilato ciclasa induce un aumento inicial de las concentraciones citoplasmáticas, mientras que la fosfolipasa ataca los lípidos de la membrana al generar ácido araquidónico (David et al., 2007: pp.335-348).

Según Martínez (2017, pp.356-369). Al aumentar la permeabilidad de la membrana al Ca⁺⁺, aumenta la concentración de este ion en el citoplasma, lo que determina la formación de microtúbulos en los mastocitos, así como el movimiento de los gránulos citoplasmáticos hacia las células de la membrana, haciendo que los gránulos se fusionen con la membrana y libera gradualmente intermedios en el espacio extracelular. Estos mediadores son principalmente: histamina, enzimas proteolíticas, el factor quimio táctico del eosinófilo, factor quimio táctico del neutrófilo y heparina (Ishizaka, 2016, pp.34-45).

El ácido araquidónico posiblemente esté formado por dos vías metabólicas, la de la enzima ciclooxigenasa, que determina la producción de prostaglandinas (PG) y tromboxano, y la de lipoxigenasa que conduce a la formación de leucotrienos (LT). Todas estas sustancias son sintetizadas por mastocitos y son de naturaleza lipídica, lo que las convierte en la segunda clase más importante de mediadores inflamatorios. (Koo et al., 2012: p.191).

El basófilo es una célula predominantemente hematopoyética que migra a los tejidos durante la inflamación y asume una mayor liberación de mediadores ya que se activa mediante mecanismos similares a los mastocitos y la desmielinización al liberar mediadores equivalentes a estas sustancias celulares (Male et al., 2015: p.652).

1.3.4.2. Efectos de los mediadores

- **Mediadores preformados**

- a) **Histamina.** Es un mediador ampliamente distribuido por todo el cuerpo, se detecta principalmente en mastocitos y basófilos. Actúa sobre los receptores H1 de la vasculatura produciendo vasodilatación y aumento de la permeabilidad. Cuando la histamina actúa sobre los receptores H2, produce un efecto inhibitor o modulador del proceso inflamatorio (Larsen y Herison, 2008: p.896).
- b) **Enzimas proteolíticas.** La enzima proteolítica más interesante liberada por los mastocitos es la quininogenasa, que actúa sobre las proteínas de la sangre (quinógenos), provocando su descomposición en péptidos más pequeños llamados kininas, que provocan vasodilatación, aumento de la actividad, permeabilidad vascular y estimulación de las terminaciones. (Goldstein y Snyderman, 2011: pp.487-509).
- c) **Factores quimiotácticos.** El NCF consta de dos tetrapéptidos que atraen a los eosinófilos hacia el punto focal inflamatorio, haciendo que estas células se activen (Snyderman, 2013, p.257).
- d) **Heparina.** Al inducir la inhibición de la coagulación, ayuda a promover la llegada de moléculas y células al punto focal de inflamación desde la sangre.

- **Mediadores de la síntesis de Novo**

- a) **PGE2.** Es la prostaglandina más importante en el proceso inflamatorio, provocando vasodilatación y alivio del dolor. En combinación con los factores C5a y LTB4, aumenta la permeabilidad vascular (Larsen y Herison, 2008: p.896).

- b) **LTB4.** Es un quimiorreceptor de eosinófilos, neutrófilos, mastocitos y macrófagos.
- c) **Factor activador de plaquetas (PAF).** Este factor activa la agregación plaquetaria, con la liberación de mediadores y el inicio de la coagulación. También induce vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular (David et al., 2007: pp.335-348).

1.3.4.3. *Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio*

Los mediadores inflamatorios tienen dos efectos. En la fase inicial, induce modificaciones vasculares que facilitan la transferencia de moléculas de la sangre a la zona inflamatoria e inducen edemas. En la segunda fase, los mismos cambios vasculares, junto con la liberación concentrada de factores quimiotácticos, dan como resultado la aparición de células inmunes de la sangre y los tejidos circundantes (Goldstein y Snyderman, 2011: pp.487-509).

- **Fase inicial. Llegada de moléculas**

- a) **Inmunoglobulinas.** Los anticuerpos se unen y bloquean el germen y sus toxinas. La IgM e IgG activan el complemento por la vía clásica. A su vez, las IgG se une a los receptores a través de la fracción Fc (FcR) que las células fagocíticas presentan en sus membranas, potenciando la fagocitosis (Male et al., 2015: p.652).
- b) **Factores del complemento.** Además de la activación clásica, el complemento puede ser activado por vías alternativas, por productos secretados directamente por el germen. Cuando el complemento, a través de una de las dos vías, llega a la vía común, induce la lisis de patógenos o células inflamatorias extrañas. Los factores C3a y C5a, que actúan sobre los receptores de membrana, activan mastocitos y basófilos, induciendo la liberación de mediadores y amplifican los fenómenos inflamatorios (Gallin, 2009, pp.721-733).
- c) **Kininógenos.** Las kininogenasas liberadas por los mastocitos y los basófilos actúan sobre estas moléculas y producen kininas (Ishizaka, 2016, pp.34-45).
- d) **Proteínas de la fase aguda.** La proteína C reactiva (PCR) tiene la capacidad de unirse a algunas bacterias y activar el complemento por la vía clásica (Male et al., 2015: p.652).
- e) **Factores de la coagulación.**

- **Fase tardía. Llegada de células**

- a) **Basófilo.** Junto con los mastocitos, contribuye a la liberación de mediadores.

- b) **Neutrófilo.** Es una de las primeras células en alcanzar el foco de inflamación. Matando a los gérmenes por fagocitosis o liberando factores tóxicos que contiene en sus gránulos citoplasmáticos e induce la muerte extracelular (Pétrilli et al., 2007: pp.74-93).
- c) **Monocito/Macrófago.** Los monocitos y macrófagos, procedentes de la sangre y los tejidos adyacentes, llegan al punto focal tardíamente. Los monocitos actúan como células presentadoras de antígenos para células T y B específicas, iniciando así respuestas específicas (Sutterwalla et al., 2011, pp. 259- 264). Los macrófagos sintetizan un péptido inespecífico, la interleucina 1 (IL1), que provoca la aparición de fiebre, que puede inducir la síntesis de PGE en las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos del hipotálamo, el PGE actúa sobre el centro de termorregulación. En la médula ósea, ayuda en la producción y liberación de neutrófilos y, por lo tanto, de neutrófilos. En el hígado, la síntesis de proteínas aumenta en la fase aguda. A nivel local, la IL1 desencadena la proliferación y diferenciación de las células T y B, contribuyendo así a la respuesta específica. También activa la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno, fenómenos implicados en la fase de reparación inflamatoria (Abbas et al., 2009, pp.886-891).
- d) **Linfocitos T y B.** Potenciados por el macrófago inician respuestas específicas. Las células B de los tejidos linfoides asociados con tejidos o membranas mucosas sintetizan IgE, que cuando se unen al mastocito o basófilo pueden aumentar la inflamación. Por otro lado, las células T comienzan a producir linfoquinas que prolongan la inflamación en una respuesta inmune más compleja (Broide, 2008, pp.56- 70).
- e) **Eosinófilo.** Aunque es una célula citotóxica en las infecciones parasitarias, tienen una función reguladora en la inflamación.

1.3.4.4. Regulación de la respuesta inflamatoria

La inflamación está estrictamente regulada, evitando así una respuesta exagerada o dañina. Ciertos mediadores inducen una activación que al variar sus concentraciones o al actuar sobre diferentes receptores, induce una inhibición, equilibrando así la respuesta inflamatoria (Rivera y Gilfillan, 2012: pp.214- 225).

- a) **Histamina.** Al actuar sobre los receptores H2, inhibe la liberación de mediadores en mastocitos y basófilos, inhibe la actividad de los neutrófilos y quimiotaxis y activa el régimen de linfocitos T supresores.

- b) **PGE.** Produce inhibición de la liberación de mediadores en mastocitos y basófilos e inhibe la proliferación y diferenciación en linfocitos
- c) **Agonistas autonómicos.** Los mastocitos y los basófilos parecen tener receptores adrenérgicos y colinérgicos, lo que sugiere que la liberación de mediadores puede estar sujeta a una regulación autónoma (Fainboim y Geffner, 2015: p.60).
- d) **Heparina.** Inhibe la coagulación y la activación de los factores del complemento.
- e) **Eosinófilo.** Esta célula, atraída por el ECF-A, viaja al foco de inflamación, donde libera una cascada de enzimas que descomponen varios mediadores inflamatorios (Ming y Flavell, 2008: pp.468- 476).

1.3.4.5. *Reparación*

Una vez que las causas de la infiltración han desaparecido o han sido eliminadas por la propia respuesta inflamatoria, comienza el proceso de reparación. Estos procesos incluyen la aparición de fibroblastos, que proliferan y sintetizan colágeno, la proliferación de células epiteliales y la proliferación de vasos dentro de la herida (Delany, 2008, pp.121- 132).

1.4. **Fármacos antiinflamatorios**

1.4.1. *Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)*

- **Definición**

Son un grupo heterogéneo de fármacos encargados de reducir la respuesta inflamatoria por tener actividad farmacológica inhibidora de la ciclooxigenasa, tanto de tipo 1 como de tipo 2. También interfiere en diversos niveles sobre la respuesta inflamatoria, reduce la migración de granulocitos y monocitos, reduce la fagocitosis y modifica la respuesta de los linfocitos (Toledo, 2014, pp.266-269).

- **Mecanismo de acción**

Se basa en bloquear la síntesis de prostaglandinas, inhibiendo la actividad de isoformas (COX1 y COX2) responsables de la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano, que actúan como mediadores directos de la inflamación a nivel central y periférico. El efecto de los AINE, cuando se liberan en el tejido dañado, es reducir o eliminar los marcadores inflamatorios como dolor, enrojecimiento o eritema, fiebre e hinchazón (Lorenzo et al., 2015: pp.709-723).

1.4.2. Antiinflamatorios esteroides (corticoides)

- **Definición**

Estos son otro tipo de fármacos que juegan un papel muy importante en el proceso inflamatorio, su función es inhibir la producción de factores celulares como lo son las citosinas, también actúan disminuyendo la liberación de factores vaso activos y quimiotácticos, son llamados medicamentos narcóticos corticosteroides porque son ligandos de igual similitud a las hormonas que se producen en las glándulas suprarrenales de los riñones (Flórez et al., 2014: pp.824-836).

- **Mecanismo de acción**

Los receptores de esteroides se encuentran en la célula, por lo que los medicamentos ingresan a la célula por transporte de difusión pasiva, donde se unen a receptores específicos en el citoplasma de los tejidos diana. Se induce a que se lleve a cabo la expresión de las anexas, que son un grupo de proteínas capaces de inhibir la formación de fosfolipasa A2, interfiriendo en la producción de sustancias pro inflamatorias como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, reduciendo la síntesis y liberación (Serra et al., 2012: pp.158-170).

1.5. Flavonoides

También conocidas como antotaxinas, son uno de los grupos más abundantes de metabolitos secundarios, que se encuentran en la mayoría de las plantas superiores en hojas, flores y fruto (Lock, 2008, pp.111-126).

La presencia de flavonoides en las algas no se ha demostrado hasta ahora, sin embargo, son comunes en *Bryophytas* (Musgos y Hepáticas). En las *Pteridophytas* la variedad estructural de flavonoides no es mayor, las *Psylitales* y *Selaginellales* se caracterizan por la presencia de biflavonoides, las *Equisetales* por la de antocianidoles. En los Helechos predominan los O-heterópsidos, pero también se pueden encontrar chalconas y proantocianidoles. En las Gimnospermas, los proantocianidoles son bastante estables, cuya presencia se observa en las Cycadales y Coníferas. Los flavonoides son responsables de la coloración de flores, frutos y hojas que, si no son directamente visibles, contribuyen a la coloración por su papel como copigmentos (Bruneton, 2009, pp.306-325).

1.5.1. Biosíntesis de los flavonoides

Todos los flavonoides (más de 4000) tienen un origen biosintético común y por esta razón la composición estructural básica es la misma. Todos están formados por 15 átomos de carbono en sus núcleos de base y están dispuestos en el sistema C6-C3-C6 en el cual dos anillos aromáticos están unidos por una unidad de 3 carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C (Kuklinski, 2000, pp.167-170).

Se forman biogénicamente a través de la ruta del shikimato y del acetato malonato, siendo la chalcona el precursor del que se derivan otras sustancias. La reacción química de la formación de la chalcona está controlada por las enzimas: chalcona sintasa y chalcona flavona isomerasa (Limon et al., 2014: pp.143-154).

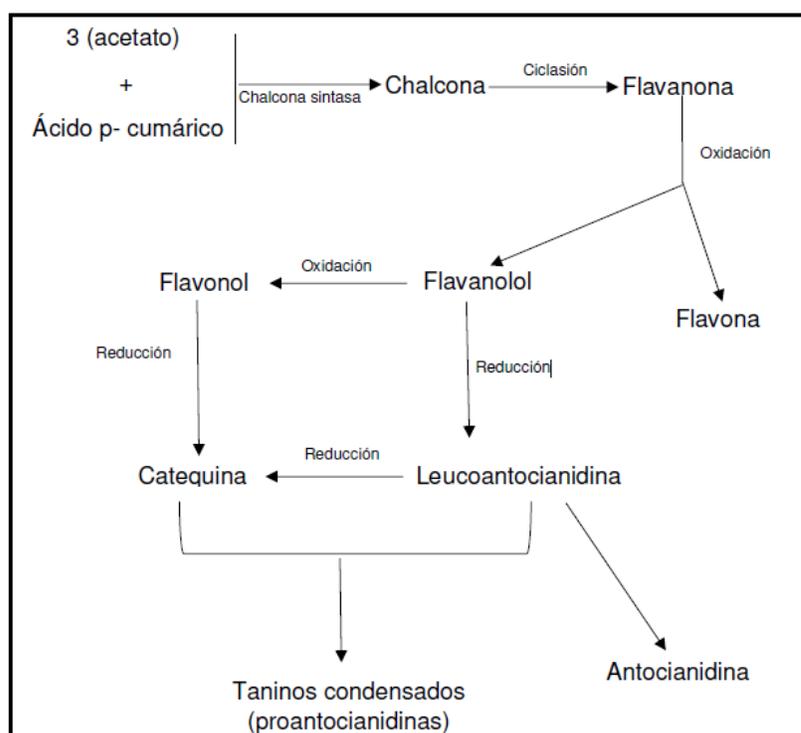


Figura 2-1: Síntesis biogénica de los flavonoides

Fuente: Kuklinski, 2000, p. 206.

1.5.2. Clasificación de los flavonoides

Por sus características estructurales, los flavonoides se clasifican en:

- a) **Flavanos:** con un grupo-OH en posición 3 del anillo C, como la catequina.
- b) **Flavonoles:** poseen un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo-OH en posición 3 del anillo C, como la quercetina.
- c) **Flavonas:** poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3, como la diosmetina.
- d) **Antocianidinas:** tienen unido el grupo-OH en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C, como la cianidina.
- e) **Isoflavonas:** con 2 grupos OH unidos en la posición 1 y 3 del anillo C, como la genisteína.
- f) **Flavanonoles:** se caracterizan por la unión de un grupo OH al carbono 1, 2 y 3 del anillo C, destaca la taxifolina (Manach et al., 2013: pp.727-747).

1.5.3. Propiedades farmacológicas

El científico húngaro Albert Szent-Györgyi (ganador del premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1937) descubrió este metabolito y le dio el nombre de «vitamina P», describiendo que los flavonoides poseen propiedades como: antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras, antineoplásicas, contra la fragilidad capilar, espasmolíticos, coleréticos, estrógenicos, diuréticos, neuroprotectores, antivirales, antibacterianas, antialérgicas, mejoran el rendimiento cognitivo, son hepatoprotectores y fungitóxicas (Pérez, 2015, pp.48- 52).

1.6. Experimentación animal

1.6.1. Animales de experimentación

Se define como animal de experimentación a todo aquel ser vivo no humano, vertebrado o invertebrado utilizado con fines experimentales y científicos; su uso se basa básicamente en su similitud fisiológica con la especie humana. Entre los animales utilizados en las investigaciones se encuentran los primates no humanos, gatos, perros, reptiles, anfibios, ovejas, cerdos, cabras, peces, insectos y roedores, estos últimos son las más utilizadas y entre ellas se encuentran las ratas, ratones, conejos y cobayos (Romero et al., 2016, pp.288-299).

1.6.2. Ratonos *Mus musculus* L

El ratón doméstico es un pequeño roedor cuya longitud total no supera los 21 cm y se caracteriza por una cola desnuda, pero con un pelaje fino. Los colores pueden variar ampliamente, desde gris claro a marrón o negro y combinaciones de los anteriores.

Generalmente es café claro o negro en las partes superiores del cuerpo y con vientre pálido o blanco, la cola es más clara en la parte inferior. Las formas comensales tienden a tener colas más largas y pelajes más oscuros que las formas salvajes. Las patas traseras suelen ser estrechas y los dedos externos tienden a ser más cortos. Las hembras tienen 10 o 12 senos. Como el resto de roedores, tiene cuatro incisivos, dos dientes superiores y dos inferiores, y carece de caninos y premolares, provocando un espacio vacío. Sus incisivos tienen una muesca y crecen de por vida desde la base, reemplazando el desgaste causado por cortar y masticar materiales duros (Medellín, 2005, pp.1-7).

- **Reino:** Animalia
- **Phylum:** Chordata
- **Clase:** Mammalia
- **Orden:** Rodentia
- **Familia:** Muridae
- **Especie:** *Mus Musculus*

1.7. Gel

Un gel es una preparación semisólida que contiene uno o varios principios activos y aditivos, sólidos en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite de tal manera que se atrapan en una red de partículas en fase líquida.

Se denominan geles a coloides transparentes de dos componentes, rico en naturaleza líquida y semisólida. La característica común es la presencia de una especie de estructura continua que les confiere las propiedades de los semisólidos. Son sistemas estructuralmente coherentes y tienen un mecanismo que tiende a reducir la hidratación de las partículas coloidales hidrófilas, provocando su coagulación (fenómeno de inestabilidad) (Teodoro, 2009, p.35).

1.7.1. Clasificación

Geles hidrófilos o hidrogeles: Constituidos por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrófilos, Son gelificados por polímeros como: goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxílicos, silicatos de aluminio y magnesio.

Geles hidrófobos (lipogeles u oleogeles): Constituidos por parafina líquida suplementada con polietileno o por aceites grasos gelificados formados a partir de anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc. Los lipogeles son vehículos oleosos oclusivo (dermatosis crónica). Tienen características muy aceptables de extensibilidad y adherencia a la piel (Teodoro, 2009, p.35).

1.8. Análisis de laboratorio

1.8.1. Pruebas en droga cruda

- **Contenido de Humedad:** Es el agua libre contenida dentro el material vegetal. Para una buena conservación la humedad debe ser inferior al 10%, esto con el fin de evitar procesos enzimáticos.
- **Cenizas Totales:** Representan el contenido de sales minerales o materia inorgánica de la droga. En condiciones extremas permanece constante y nos permite detectar falsificaciones con otras drogas, suelo u otros minerales. De esta forma da una idea del contenido mineral de la planta, que suele rondar por el 5%.
- **Cenizas Solubles en Agua:** Determina cuantitativamente la cantidad de material inorgánico presente en las cenizas totales.
- **Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico:** Determina el contenido de sustancias minerales insolubles en ácido clorhídrico que tiene la droga vegetal cruda (Fajardo et al., 2018, p.1-12).

1.8.2. Ensayos de tamizaje fitoquímico

- **Ensayo de Sudán:** Para determinar la presencia de compuestos grasos.
- **Ensayo de Dragendorff:** Es útil para determinar la presencia de alcaloides.
- **Ensayo de Mayer:** Es útil para determinar la presencia de alcaloides.
- **Ensayo de Wagner:** Es útil para determinar la presencia de alcaloides

- **Ensayo de Baljet:** Ayuda a identificar compuestos que contienen grupos lactónicos.
- **Ensayo de Libermann-Burchard:** Esta prueba detecta triterpenos y/o esteroides.
- **Ensayo de Resinas:** Esta prueba permite la identificación de resinas.
- **Ensayo de Fehling:** Permite detectar la presencia de azúcares reductores en el extracto
- **Ensayo de la Espuma:** Detecta presencia de saponinas esteroidales y triterpenos.
- **Ensayo de Cloruro Férrico:** Determina la presencia de taninos y compuestos fenólicos en extractos acuosos y alcohólicos.
- **Ensayo de Borntrager:** Se utiliza para determinar si hay quinonas presentes en el extracto.
- **Ensayo de la Ninhidrina:** Esta prueba es útil para la determinación de aminoácidos libres y/o aminas en general en los extractos de plantas
- **Ensayo de Antocianidinas:** Ayuda a la determinación de la presencia en extractos vegetales de estructuras de secuencia C6-C3-C6 pertenecientes al grupo de los flavonoides.
- **Ensayo de Shinoda:** Esta prueba es útil para la determinación de flavonoides en extractos.
- **Ensayo de Mucílagos:** Permite reconocer la presencia de la estructura polisacárido en extractos de plantas, formando un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua sin que sea extraída (Guerrero et al., 2015, pp.70-75).

1.8.3. Pruebas en extracto hidroalcohólico

- **Densidad relativa:** Se basa en la diferencia de los pesos de picnómetros vacíos, con agua y con la sustancia a ensayar a 25°C.
- **Sólidos totales:** Los Sólidos Totales representan al residuo que se obtiene de una muestra cuando se somete a un proceso de evaporación y secado en estufa.

1.8.4. Actividad antiinflamatoria

Se utilizó la prueba de edema plantar inducido con carragenina propuesto por Winter, esta técnica se fundamenta en la administración subcutánea de una solución de carragenina al 1% a un nivel de la fascia plantar en el ratón, la carragenina genera inflamación porque estimula la producción de prostaglandinas, esta producción se deriva del metabolismo del ácido araquidónico que resulta de los procesos inflamatorios, inmunológicos y angiogénicos (Winter et al., 1962, pp.544-547).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de investigación

La investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de: Tecnología Farmacéutica, Productos Naturales y el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la facultad de Ciencias en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Diseño de estudio

Es un estudio correlacional con un diseño de investigación experimental que lleva un método analítico cuyos resultados son expresados de manera cuantitativa.

2.3. Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo de muestra

La población de estudio son las hojas de la planta *Sigesbeckia serrata* con un tamaño de muestra de 600 gramos mediante el método de muestreo aleatorio simple.

2.3.1. Criterios de inclusión

Las mejores hojas superiores de la planta que presenten bordes íntegros, haz y envés sin fisuras y un ápice definido.

2.3.2. Criterios de exclusión

Aquellas hojas que presenten daños por acciones físicas producidas por el viento, agua, animales, insectos o el humano, también hojas que se encuentren en proceso de descomposición o contaminación microbiana. De las hojas se excluirán los peciolo, vaina y tallos de la planta.

2.4. Hipótesis

El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata* posee actividad antiinflamatoria significativa.

2.5. Materiales, equipos y reactivos

2.5.1. *Material vegetal*

El material vegetal utilizado es 600 gramos de hojas de la planta *Sigesbeckia serrata*.

2.5.2. *Material biológico*

Se utilizaron 36 ratones machos de la especie *Mus musculus*, de 25 a 30 gramos en peso

2.5.3. *Material farmacológico*

Se empleó Diclofenaco Sódico 1 % (Diflox®) en gel como control positivo.

2.5.4. *Materiales de laboratorio*

Tabla 1-2: Materiales utilizados en el laboratorio

Análisis	Materiales
Control de calidad de la materia prima	Reverbero
	Piseta
	Malla metálica
	Crisoles de porcelana
	Cápsulas de porcelana
	Espátula
	Pinza para cápsula
Tamizaje Fitoquímico	Tubos de ensayo
	Gradilla
	Vasos de precipitación 50, 100, 250 y 500 ml
	Pipetas graduadas 1, 5, 10 ml
	Papel filtro
	Frasco ámbar 1000 ml
	Reverbero
	Malla metálica
	Embudos simples
	Varilla de vidrio
Control de calidad del extracto hidroalcohólico	Balón esmerilado 1000 ml
	Vidrio reloj
	Frasco ámbar 500 ml
	Vaso de precipitación 500 ml
Elaboración del gel	Varilla de vidrio
	Probeta
	Vaso de precipitación 250 ml
	Jeringa 20 ml
	Envases de plástico de 150ml
Actividad antiinflamatoria	Jeringas hipodérmicas
	Torundas con alcohol

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

2.5.5. Equipos de laboratorio

Tabla 2-2: Equipos utilizados en el laboratorio

Análisis	Equipos
Control de calidad de la materia prima	Estufa Memmert SNB400
	Molino Arthur H. Thomas C. O
	Balanza analítica Radwag
	Mufla Ivymen N 8 L; 1100°C
	Desecador
Tamizaje Fitoquímico	Cámara UV visible
	Cámara de flujo laminar ascendente
Control de calidad del extracto hidroalcohólico	Refractómetro
	pH metro
	Estufa Memmert SNB400
	Mufla Ivymen N 8 L; 1100°C
	Rotavapor

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

2.5.6. Reactivos de laboratorio

Tabla 3-2: Reactivos utilizados en el laboratorio

Análisis	Reactivos
Control de calidad de la materia prima	Agua destilada
	Ácido clorhídrico 10 %
Tamizaje Fitoquímico	Agua destilada
	Éter etílico
	Alcohol 96 %
	Reactivo de Sudán III
	Ácido clorhídrico 1 %
	Ácido clorhídrico concentrado
	Reactivo de Dragendorff
	Cloruro de sodio
	Reactivo de Mayer

	Reactivo de Wagner
	Reactivo de Baljet
	Cloroformo
	Anhídrido acético
	Ácido sulfúrico concentrado
	Carbonato de sodio
	Reactivo de Fehling
	Acetato de sodio
	Tricloruro férrico 5 %
	Hidróxido de sodio 5 %
	Reactivo de Ninhidrina
	Alcohol amílico
	Magnesio metálico
Actividad antiinflamatoria	Carragenina

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

2.6. Técnicas y métodos

2.6.1. Recolección del material vegetal

La recolección de las hojas del material vegetal de la especie *Sigesbeckia serrata*, se la realizo en la parroquia El Valle del cantón Loja de la provincia de Loja, exactamente en las siguientes coordenadas geográficas:

- Latitud: -4.0329396
- Longitud: -79.20254
- Altitud: 2137 msnm

2.6.2. Verificación del material vegetal

La planta fue identificada y verificada por el Ingeniero Nelson Jaramillo, Técnico Docente del Herbario Reinaldo Espinoza de la Universidad Nacional de Loja (Anexo L).

2.6.3. Control de calidad de la droga vegetal cruda

El control de calidad es útil para evaluar las condiciones higiénicas de la droga cruda, esto se hace considerando los parámetros de las agencias responsables de asegurar la calidad del medicamento. A continuación, se describen cada uno de los procedimientos que se realizaron, según manuales de farmacognosia y productos naturales (Miranda, 2006, pp.23-51).

2.6.3.1. Determinación del contenido de humedad

Pesar 2 gramos de droga seca y triturada, con una tolerancia de 0.5 mg y transferir a un crisol de porcelana previamente tarado y desecado hasta conseguir un peso constante, seguidamente desecar a 105°C por 3 horas. Colocar el crisol en un desecador durante 15 minutos para que se enfríe a temperatura ambiente, pesar y volver a colocar en la estufa durante 1 hora, repetir el procedimiento hasta obtener un peso constante.

Expresión de resultados:

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

Donde:

%H = pérdida en peso por desecación (%)

M2 = masa del crisol con la muestra de ensayos (g)

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

M = masa del crisol vacía (g)

100 = factor matemático

2.6.3.2. Determinación de cenizas totales

Pesar 2 g de droga cruda, seca y triturada, con una tolerancia de 0.5 mg y colocarla en un crisol de porcelana previamente tarado. Calentar suavemente hasta que haya presencia de carbón e incinerar en una mufla a temperatura de 700 a 750 °C por 2 horas. Enfriar el crisol en un desecador y pesar en una balanza analítica, repetir esta operación hasta que dos pesajes consecutivos no difieran en más de 0.5 mg por g (masa constante).

Si el residuo tiene trazas de carbón, agregar unas gotas de solución de peróxido de hidrogeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y calentar hasta evaporación de solventes. Cuando el crisol se enfríe, el residuo debe tener un color blanco o casi blanco.

Expresión de resultados:

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

Donde:

C = cenizas totales en base hidratada (%).

M = masa del crisol vacío (g)

M1 = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos.

2.6.3.3. Determinación de cenizas solubles en agua

Para las cenizas totales obtenidas con la determinación anterior, se agrega 15mL de agua al crisol, se tapa el crisol con un vidrio reloj y se deja hervir por 5 minutos. La solución resultante se filtra a través de un papel filtro libre de cenizas, posteriormente el papel filtro con el residuo se los coloca en el crisol utilizado inicialmente y se carboniza en el reverbero, luego se transfiere a la mufla a 750°C por 2 horas. Finalmente se coloca en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa. En intervalos de 30 minutos se pasa hasta obtener peso constante.

Expresión de resultados:

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

Donde:

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua.

M = masa del crisol vacío.

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

M2 = masa del crisol con las cenizas totales (g).

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

2.6.3.4. *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico*

Al crisol utilizado en el ensayo de cenizas totales, agregar 3 mL de ácido clorhídrico al 10%, cubrir el crisol con un vidrio reloj y calentar a baño maría por 10 minutos, el vidrio reloj se lava con 5 mL de agua caliente, combinando al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel filtro sin cenizas, el residuo se lava varias veces con agua caliente hasta que la solución filtrada acidulada con ácido nítrico (con 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M) no indique la presencia de cloruros.

El filtrado y el residuo se desecaron en una estufa a 105°C y se transfiere al crisol de porcelana usado originalmente. El crisol que contiene la muestra se coloca en la mufla a 750°C durante 2 horas, y luego se transfiere a una estufa a 105 °C durante 15 minutos. Finalmente, al crisol se coloca en un desecador para enfriar a temperatura ambiente y se pesar hasta peso constante.

Expresión de resultados:

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

Dónde:

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 clorhídrico (g)

2.6.4. Obtención de los extractos

Las hojas de la planta *Sigesbeckia serrata* previamente secas y trituradas, se extraen de manera continua con solventes de diferentes polaridades, como se observa en la Figura 1-2, basado en “Normas Ramales de drogas crudas, extractos y tinturas”. Los extractos resultantes: etéreo, hidroalcohólico y acuoso, son fundamentales para realizar las pruebas de identificación de metabolitos secundarios que posee las hojas de la planta (MINSAP, 1992, p.309).

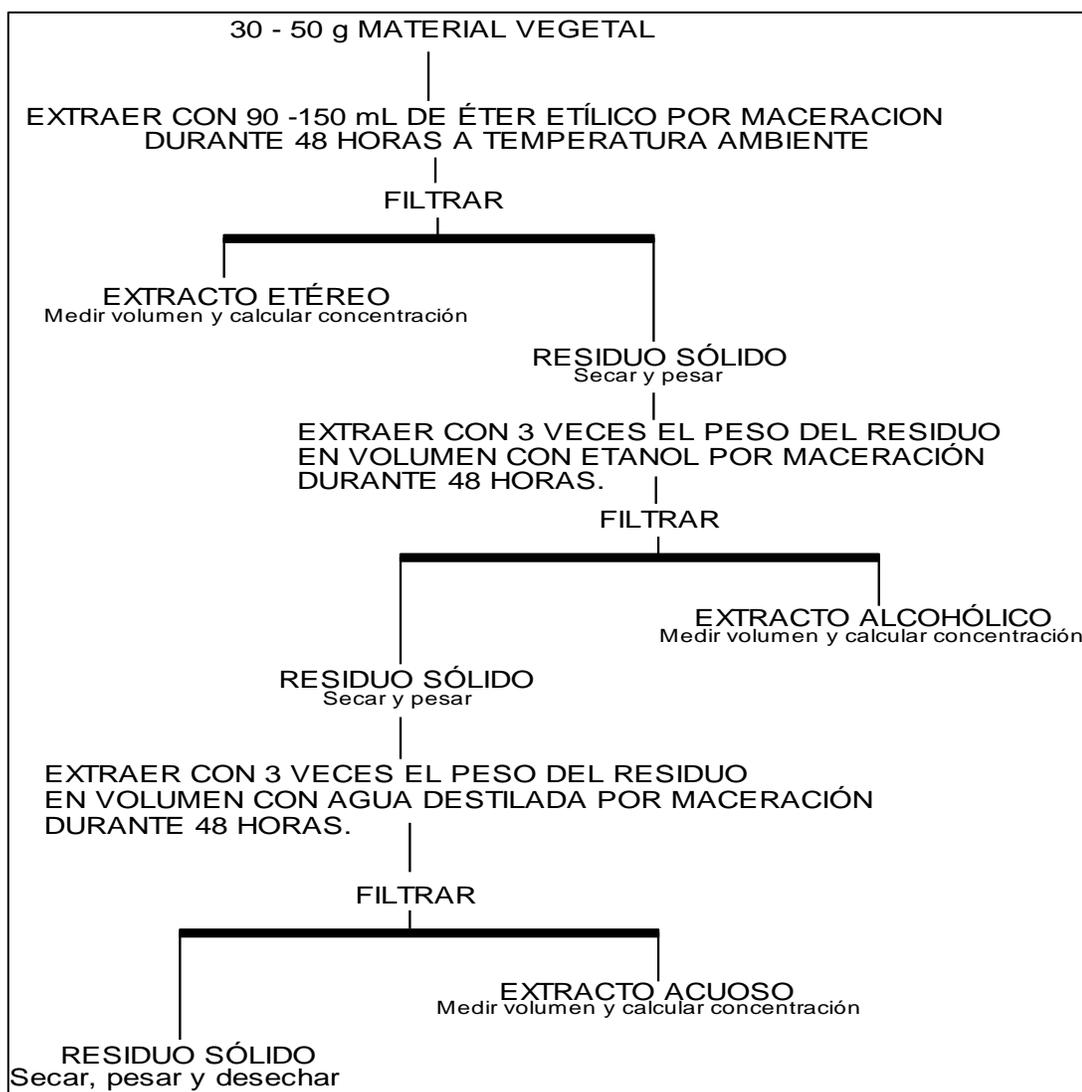


Figura 1-2: Protocolo de extracción de metabolitos para el tamizaje fitoquímico

Fuente: (Miranda, 2006, pp.23-51).

2.6.5. Tamizaje Fitoquímico

La finalidad del cribado fotoquímico es poder interpretar los resultados del cribado farmacológico e identificar las diferentes actividades terapéuticas presentes en las plantas estudiadas.

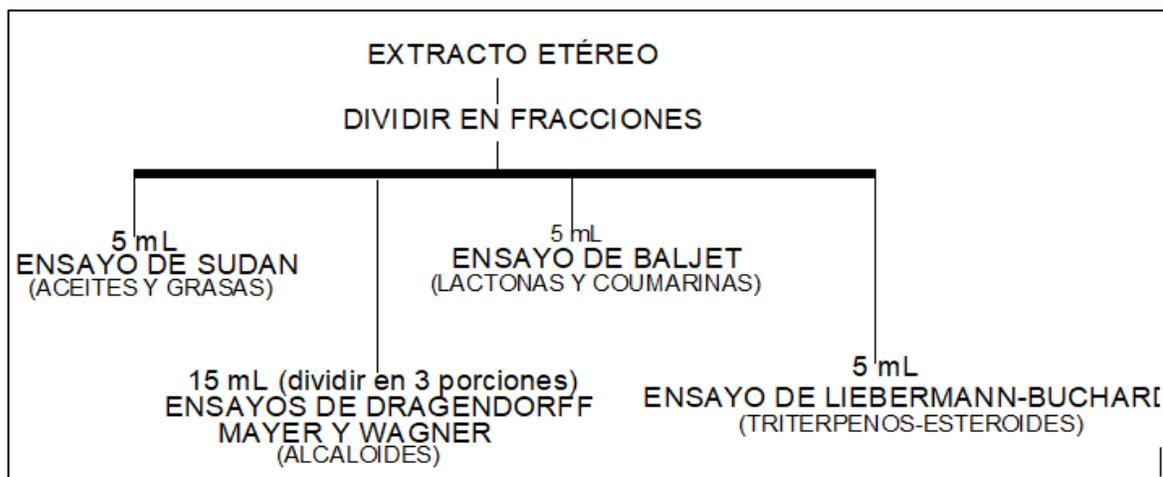


Figura 2-2: Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto etéreo

Fuente: (Miranda, 2006, pp.23-51).

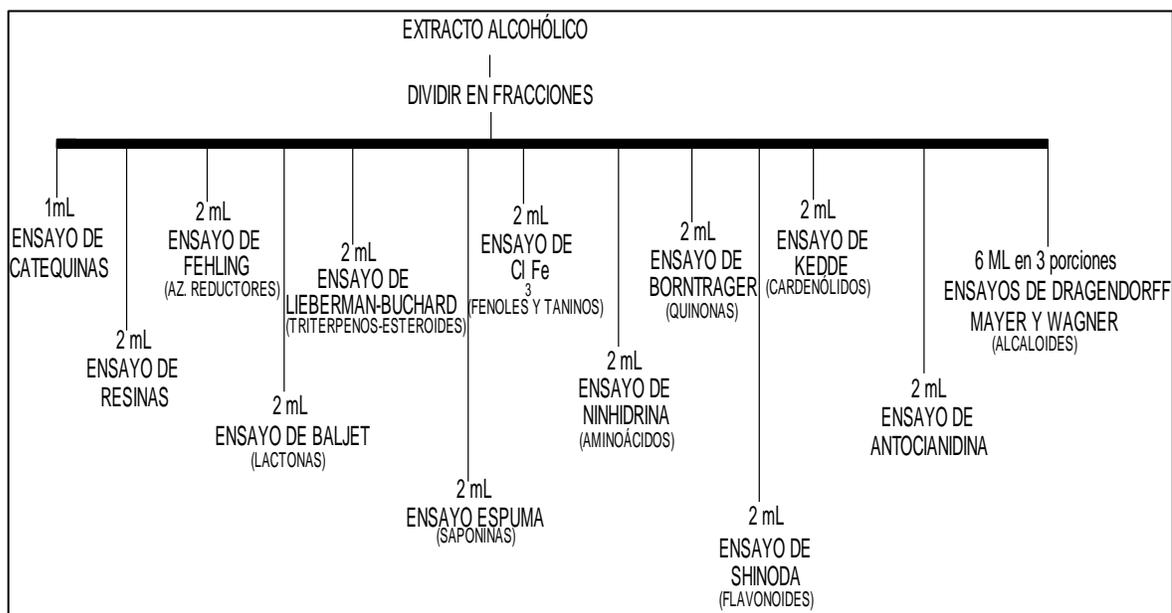


Figura 3-2: Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólico

Fuente: (Miranda, 2006, pp.23-51).

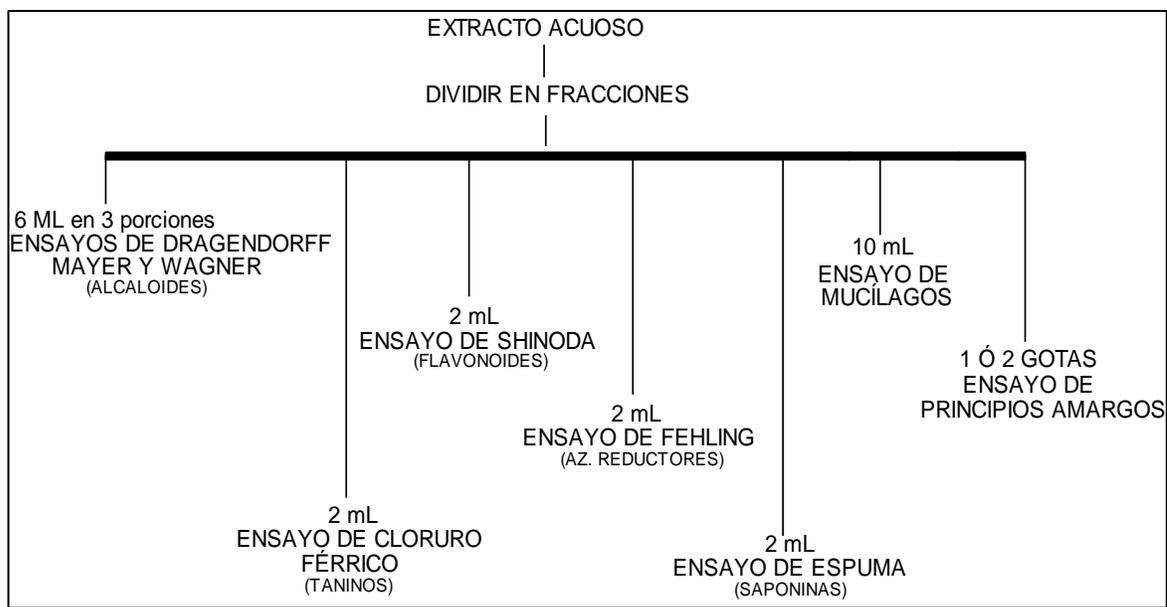


Figura 4-2: Protocolo de pruebas de tamizaje fitoquímico en extracto acuoso

Fuente: (Miranda, 2006 pp.23-51).

Los protocolos antes mencionados representan las pruebas para la realización del tamizaje fitoquímico en base a los diferentes extractos, esta metodología está basada en las Normas Ramales de Drogas Crudas, Extractos y Tinturas (Bolzan, 2007, p.1104).

2.6.5.1. *Ensayo de Sudán*

En un tubo de ensayo, tomar 5 mL del extracto vegetal y añadir 1 mL de colorante de Sudán III o Sudán IV, seguidamente colocar el tubo de ensayo en baño maría hasta la volatilización completa del solvente.

Resultado

Se considera un resultado positivo si hay gotas o una delgada laminilla de color rojo en el líquido o en la pared del tubo de ensayo.

2.6.5.2. *Ensayo de Dragendorff*

La alícuota del extracto debe estar disuelta en solvente orgánico, al extracto disolver en un solvente orgánico, evaporar hasta eliminar completamente y agregar 1 ml de ácido clorhídrico al 1% en agua

al residuo volátil. Si la porción de muestra es un extracto acuoso, agregar una gota de ácido clorhídrico concentrado seguido de 3 gotas de reactivo de Dragendorff.

Resultados

Se considera como resultado positivo si existe opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado (+++).

2.6.5.3. Ensayo de Mayer

Realizar el mismo procedimiento de la prueba de Dragendorff, hasta obtener una solución ácida. Luego agregar una pizca de cloruro de sodio en polvo, agitar, filtrar, y finalmente se agregar 2 - 3 gotas de reactivo de Mayer.

Resultado

La presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado (+++) se considera como resultado positivo.

2.6.5.4. Ensayo de Wagner

Realizar el mismo procedimiento de la prueba de Dragendorff hasta obtener una solución ácida, finalmente agregar de 2 a 3 gotas de reactivo de Wagner.

Resultado

La presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado (+++) se considera como resultado positivo.

2.6.5.5. Ensayo de Baljet

Si el extracto no es alcohólico, evaporar hasta eliminar completamente el solvente en baño maría, posteriormente agregar 1 ml de alcohol etílico al residuo, mezclar bien y agregar 1 ml de reactivo de Baljet.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando produce coloración rojiza (++) o cuando hay presencia de un precipitado rojo (+++).

2.6.5.6. Ensayo de Libermann-Burchard

Si la alícuota no está presente en cloroformo, evaporar el solvente en baño maría y el residuo disolver en 1 mL de cloroformo, después se agrega 1 mL de anhídrido acético, mezclar bien y agregar de 2-3 gotas de ácido sulfúrico a lo largo de las paredes del tubo de ensayo sin agitar.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando presenta cambio de coloración de forma rápida:

- Rosado - Azul (muy rápido).
- Verde oscuro – negro (final de la reacción)
- Verde intenso - visible (aunque rápido).

2.6.5.7. Ensayo de Catequinas

Tomar 1 gota del extracto alcohólico por medio de un tubo capilar y colocar sobre un papel de filtro, luego aplicar una gota de solución de carbonato de sodio a la mancha del extracto en el papel de filtro.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando el papel filtro en una cámara UV se puede distinguir una mancha de color marrón verdoso.

2.6.5.8. Ensayo de Resinas

Tomar 2 ml del extracto etanólico y adicionar 10 ml de agua destilada, finalmente reposar por unos minutos.

Resultado

Si hay precipitado se considera como resultado positivo.

2.6.5.9. *Ensayo de Fehling*

Si la alícuota no está en agua, el solvente evaporar a sequedad en baño maría y el residuo volver a disolver en 2 mL de agua. Luego, agregar 2 mL de reactivo de Fehling y calentar en un baño maría por 10 minutos.

Resultado

Cuando la solución torna color rojo o aparece un precipitado rojo se considera como resultado positivo (Bolzan, 2007, p. 1104).

2.6.5.10. *Ensayo de la Espuma*

Tomar 2 ml del extracto etanólico, luego diluirlo 5 veces su volumen en agua y homogeneizar vigorosamente entre 5 y 10 min.

Resultado

Se considera un resultado positivo cuando hay espuma superior a 2 mm de altura en la superficie del líquido durante un tiempo prolongado.

2.6.5.11. *Ensayo de Cloruro férrico*

Tomar una porción del extracto alcohólico y agregar 3 gotas de tricloruro férrico al 5% en suero fisiológico. Si el extracto es acuoso agregar acetato de sodio para su neutralización y luego agregar 3 gotas de tricloruro férrico al 5% en suero fisiológico.

Resultado

Considere un resultado positivo cuando hay un cambio de coloración:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

2.6.5.12. *Ensayo de Borntrager*

Si el extracto no está presente en cloroformo, evaporar el solvente en un baño de agua hasta que el solvente se elimine por completo, al residuo agregar 1 ml de cloroformo, y finalmente a 1 ml de hidróxido de sodio al 5%, hidróxido de potasio 5 % o amoníaco en agua, homogenizar y dejar reposar hasta separar sus fases.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando la fase alcalina (superior) toma una coloración rosada.

2.6.5.13. *Ensayo de la Ninhidrina*

Para esta prueba, si el extracto está en un solvente orgánico, tomar 1 ml de extracto alcohólico y evaporarlo en un baño de agua, agregar 2 ml de solución acuosa de Ninhidrina al 2% al residuo y calentar la solución de 5-10 minutos en un baño de agua.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando se desarrolla un color azul-violáceo (Capasso, 2011, pp.21-28).

2.6.5.14. *Ensayo de Antocianidinas*

Tomar 2 ml de extracto etanólico y agregar 1 ml de HCL concentrado, luego calentar durante 10 min. Enfriar a temperatura ambiente y añadir 2 mL de alcohol amílico y 1 mL de agua. Luego homogeneizar bien y dejar reposar hasta que se separen las dos fases.

Resultado

Se considera positivo cuando la fase amílica da una coloración de roja a marrón.

2.6.5.15. *Ensayo de Shinoda*

Tomar una muestra del extracto etanólico y/o la solución acuosa y agregar 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y una tira de magnesio metálico. Al final de la reacción, esperar cinco minutos y agregar 1 mL de alcohol amílico, agitar y dejar reposar hasta que se separen sus fases.

Resultado

Se considera un resultado positivo cuando el alcohol amílico se vuelve naranja, rojo, amarillo o carmelita.

2.6.5.16. Ensayo de Mucílagos

Para esta prueba, tomar parte del extracto acuoso y colocar en hielo hasta que se enfríe de 0-5 °C.

Resultado

Se considera como resultado positivo cuando toma una consistencia gelatinosa.

2.6.5.17. Ensayo de principios amargos y astringentes

Para este ensayo, tomar una gota del extracto acuoso y colocar en la lengua para saborearlo.

2.6.6. Preparación del extracto hidroalcohólico

La preparación del extracto hidroalcohólico se realiza por el método de maceración. Para ello, colocar 100 gramos de hojas de *Sigesbeckia serrata*, secas y molidas en un frasco de vidrio ámbar al que se le adiciona 1000 ml de etanol al 70% y macerar por 72 hora. Pasado este tiempo filtrar la solución resultante y concentrar en un Rotavapor a una temperatura de 60 °C y 150 rpm, controlar la temperatura y la presión del Rotavapor para obtener un buen concentrado. Finalmente, congelar con nitrógeno líquido el concentrado y liofilizar para obtener muestra seca (Miranda, 2006, pp.23-51).

2.6.7. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

El control de calidad del extracto hidroalcohólico se realiza por triplicado con el fin de obtener resultados confiables.

2.6.7.1. *Determinación de características organolépticas*

Para esta determinación, en un tubo de ensayo colocar una alícuota de 15 ml del extracto hidroalcohólico para determinar mediante un análisis sensorial el color, olor, sabor y aspecto que presenta el extracto.

2.6.7.2. *Densidad relativa*

Para esta determinación, pesar un picnómetro vacío y seco, llenar con el extracto hidroalcohólico y dejar reposar por 15 minutos a 25°C y volver a pesar. Repetir esta prueba con agua destilada.

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

$$D_{25^{\circ}C} = \frac{(M_1 - M)}{(M_2 - M)}$$

En donde:

$D_{25^{\circ}C}$ = Densidad relativa

M_1 = Peso del picnómetro con el extracto (g)

M_2 = Peso del picnómetro con el agua (g)

M = Peso del picnómetro vacío (g)

2.6.7.3. *Índice de refracción*

Tomar una gota de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata* y colocar directamente en el prisma del refractómetro digital, finalmente anotar la lectura como resultado.

2.6.7.4. *pH*

Con el pH-metro digital previamente calibrado, tomar una cantidad de muestra de 25 mL en un vaso de precipitación e introducir el electrodo de medición. Anotar el resultado proporcionado por el equipo.

2.6.7.5. *Sólidos totales*

Para esta prueba, colocar 5 ml del extracto en una cápsula previamente tarada y evaporar a sequedad en un baño maría, posteriormente la cápsula transferir a una estufa a 105°C durante 2 horas finalmente, dejar enfriar en el desecador y pesar hasta obtener peso constante.

La cantidad de sólidos totales (ST), calcular utilizando la siguiente formula:

$$ST = \frac{P_r - P}{V} \times 100$$

Donde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo en g

P = masa de la cápsula vacía en g

V = volumen de la porción de ensayo

2.6.8. *Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu*

Para cuantificar fenoles totales, preparar soluciones de Ácido gálico al 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y una solución del extracto de *S. serrata* a 1000 ppm (Hidalgo, 2019, pp. 1-56). Seguidamente tomar una alícuota de 2 ml de las soluciones estándar de ácido gálico y de la muestra, adicionar 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu y 500 µL de Na₂CO₃ al 20%.

Vortezizar la mezcla por 15 seg y aforar a 5 mL, nuevamente vortezizar por 60 seg y dejar reposar en completa oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente medir la absorbancia usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. Finalmente, calcular el contenido de fenoles totales (Vinueza et al., 2017, p.2).

2.6.9. *Cuantificación de flavonoides mediante el método colorimétrico*

Preparar soluciones estándar de quercetina en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y una solución del extracto de *S. serrata* a 1000 ppm. Seguidamente tomar 1 mL de las soluciones estándar y de la muestra, añadir 4 mL de agua destilada y 300 µL de NaNO₂ al 5%, reposar por 5 min y añadir 300 µL de AlCl₃ al 10%, dejar reposar en completa oscuridad por 6 min y añadir 2 mL de NaOH 1M. Posteriormente homogenizar las soluciones y medir la absorbancia usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm. Finalmente calcular el contenido de flavonoides totales (Vinueza et al., 2017, p.2).

2.6.10. Formulación del gel

2.6.10.1. Excipientes para la formulación

Para la preparación de un lote de 250 gramos de gel antiinflamatorio partimos de la siguiente fórmula:

- Carbopol 940
- Trietanolamina
- Agua destilada
- Extracto concentrado de *Sigesbeckia serrata*
- Glicerina

2.6.10.2. Método de preparación

Para preparar el gel antiinflamatorio seguir los siguientes pasos:

- Disolver 1,5 g de Carbopol 940 en 250 mL de agua destilada con agitación durante 30 minutos en intervalos de 10 minutos hasta que se haya formado la base gelificante después, dejar reposar durante 24 horas.
- Añadir 3 mL de glicerina con agitación constante.
- Añadir 3 mL de Trietanolamina (TEA) con movimientos lentos, teniendo cuidado de no formar burbujas de aire, agitar hasta que adquiera una característica gelatinosa.
- Finalmente, se incorpora a la mezcla el extracto hidroalcohólico de *Sigesbeckia serrata* en las concentraciones respectivas (5% ,10% y 20%), agitar hasta obtener una mezcla uniforme, envasar y etiquetar.

2.6.11. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Se utilizaron 36 ratones de 25 a 30 g del género *Mus musculus* para 6 grupos de tratamientos diferentes, cada uno de ellos con 6 animales de prueba para cada grupo, las mediciones de la actividad inflamatoria se realizaron durante 7 periodos de tiempo de 1 hora cada uno como se indica en el diseño experimental.

Los grupos de tratamiento son:

- **Grupo 1. Control (negativo):** Inducción del edema plantar, sin tratamiento.
- **Grupo 2. Blanco:** Tratamiento con gel base sin principio activo.
- **Grupo 3. Estándar (Control positivo):** Tratamiento con diclofenaco sódico 1%.
- **Grupo 4. Gel 5%:** Tratamiento con gel del extracto hidroalcohólico de *S. serrata* 5%.
- **Grupo 5. Gel 10%:** Tratamiento con gel del extracto hidroalcohólico de *S. serrata* 10%.
- **Grupo 6. Gel 20%:** Tratamiento con gel del extracto hidroalcohólico de *S. serrata* 20%.

Medir la pata derecha de cada uno de los ratones de los diferentes grupos con un pie de rey, posteriormente proceder a inducir el edema en la pata derecha del ratón inyectando 0,03 mL de solución acuosa de carragenina al 1%, después de pasar 3 horas donde se produce una inflamación suplantada constante, medir nuevamente la pata y seguidamente administrar las dosis respectivas de los tratamientos antes propuestos. Las mediciones de las patas inflamadas se obtienen con un pie de rey que proporciona medidas milimétricas, esto realizar cada hora en un intervalo de tiempo de 7 horas a partir de la inflamación constante. Los resultados expresar como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula (Medina et al., 2007, pp.405-407).

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

Dónde:

Mt = medida de la pata inflamada a un tiempo x

Mo = medida normal (antes de la aplicación de la carragenina)

2.6.11.1. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico utilizar el programa MINITAB versión 2019, mediante la prueba ANOVA de un factor, con una probabilidad $p < 0.05$, con las siguientes hipótesis:

- Cuando $P \geq 0,05$:

H₀: No existe diferencia significativa en ninguno de los tratamientos antiinflamatorios administrados a los ratones.

- Cuando $p < 0,05$:

H_1 : Existe diferencia significativa en al menos en uno de los tratamientos antiinflamatorios administrados a los ratones.

Si la hipótesis nula (H_0) es aceptada, se concluye que no existe diferencia significativa en ninguno de los tratamientos. Si la hipótesis nula es rechazada y la hipótesis alternativa (H_1) es aceptada, se dice que al menos uno de los tratamientos presenta una diferencia. si esto ocurre proceder a realizar el Test de Tukey para determinar cuál de los grupos de tratamiento presenta una diferencia significativa, posteriormente se realiza las Pruebas simultaneas de Tukey para diferencia de medias y una Gráfica de Intervalos esto con el fin de corroborar los resultados (Bakieva et al., 2015, pp.1-7).

CAPÍTULO III

3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Identificación de la planta

La planta *Sigesbeckia serrata* fue identificada y verificada por el Ing. Nelson Jaramillo Díaz, el cual desempeña funciones de Técnico Docente y responsable del Herbario “Reinaldo Espinosa” de la Universidad Nacional de Loja, la identificación se realizó mediante colecciones depositadas en el herbario, literatura especializada y acompañamiento del personal técnico del herbario (Anexo L).

3.2. Control de calidad de droga cruda

Tabla 1-3: Control de calidad de droga cruda *S. serrata*

Parámetro	Hojas de <i>S. serrata</i> DC (%)	Valores de referencia
Humedad	$7,5770 \pm 0,03$	$\leq 14\%$
Cenizas totales	$9,7693 \pm 0,15$	$\leq 12\%$
Cenizas solubles en H ₂ O	$3,78 \pm 0,08$	$\leq 7\%$
Cenizas insolubles en HCl	$2,63 \pm 0,14$	$\leq 5\%$

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

Los resultados expresados en la tabla 1-3 del control de calidad de la droga cruda de *Sigesbeckia serrata*, muestran que los parámetros de calidad se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Farmacopea de Estados Unidos (USP). El porcentaje de: Humedad $7,5770 \pm 0,03$, Cenizas Totales $11,7693 \pm 0,1$, Cenizas Solubles en H₂O $3,78 \pm 0,08$ y Cenizas Insolubles en HCl $2,63 \pm 0,14$.

El contenido de humedad es el principal responsable del deterioro de un medicamento y el crecimiento de microorganismos, un bajo contenido de agua ayuda a mantener una buena estabilidad microbiana. Las cenizas totales muestran la presencia de sales minerales e inorgánicas no combustionadas como: cloruros, carbonatos, fosfatos, nitrito de sodio, calcio, etc. Además de la presencia de materia extraña como: polvo, excreta de animales, o contaminación por insectos. La ceniza soluble en agua permite determinar la cantidad de sales solubles en agua y el porcentaje de ceniza insoluble en ácido permite la identificación de carbonatos, oxalatos, arena o sílice (Allauca, 2017. pp.21-51).

Controlar la calidad del material vegetal es fundamental para determinar si se encuentra en condiciones óptimas para el estudio correspondiente, garantizando la idoneidad para ensayos posteriores, excluyendo índices de contaminación por cuerpos extraños.

3.3. Tamizaje Fitoquímico

Tabla 2-3: Tamizaje fitoquímico de las hojas de *S. serrata*

Tipo de metabolito	Ensayo	Extracto etéreo	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Aceites, grasas	Sudán	-	NA	NA
Alcaloides	Dragendorff	+	++	++
	Mayer	+	+	+
	Wagner	+	++	+
Lactonas, cumarinas	Baljet	-	+	NA
Triterpenos, esteroides	Lieberman	+	NA	NA
	Burchard			
Catequinas	Catequinas	NA	+	NA
Resinas	Resinas	NA	+	NA
Azúcares reductores	Fehling	NA	+	+
Saponinas	Espuma	NA	+	-
Taninos y fenólicos	Cloruro Férrico	NA	++	+
Quinonas	Borntrager	NA	-	-
Aminoácidos libres, aminas	Ninhidrina	NA	+	-
Antocianidinas	Antocianidinas	NA	+	NA
Flavonoides	Shinoda	NA	++	+
Mucílagos	Mucílagos	NA	NA	+
<i>Presencia (+), Moderado (++)</i> , Abundante (+++), Ausencia (-), No aplica (NA).				

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

En la Tabla 2-3, los metabolitos más destacados del tamizaje fitoquímico realizado mencionan que en el extracto etéreo se halló la presencia de: alcaloides, triterpenos y esteroides. En el extracto etanólico se evidencia la presencia de: alcaloides, lactonas y cumarinas, catequinas, resinas, azúcares reductores, saponinas, taninos y compuestos fenólicos, aminoácidos libres, aminas, Antocianidinas y

flavonoides. En el extracto acuoso se evidencia la presencia de: alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, mucílagos, taninos y compuestos fenólicos.

Al evidenciarse la presencia de metabolitos como: fenoles y flavonoides, se presume que la planta *Sigesbeckia serrata* puede poseer actividad antiinflamatoria. También presenta gran cantidad de alcaloides los cuales pueden ser útiles para calmar el dolor.

Según Heinrich et al., (2002: pp.459- 469). en su libro “Annals of Botany” comprobó la presencia mayoritariamente de metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides, taninos y terpenos en diferentes especies del género *Sigesbeckia*. En estudios realizados en los extractos de *Sigesbeckia orientalis* se encontró la presencia de: azúcares, flavonoides, alcaloides, esteroides, aminoácidos, taninos, fenoles, lípidos y saponinas. Proponiendo similitud entre los metabolitos primarios y secundarios que existen entre las dos especies (Merugu, 2017, pp.1526-1531).

3.4. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

Tabla 3-3: Características organolépticas

Parámetro	Resultados
Aspecto	Límpido
Color	Verde claro
Sabor	Amargo
Olor	Herbal

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

El extracto hidroalcohólico de *Sigesbeckia serrata* presenta un aspecto límpido, coloración verde clara representa la pigmentación propia de la planta, el sabor amargo es referente a los glucosilatos presentes, el olor de este extracto es herbal ya que desprende aceites esenciales para atraer a polinizadores.

Tabla 4-3: Características fisicoquímicas del extracto

Parámetro	Resultados
Densidad	0,9573
pH	6.653
Índice de refracción	1.36590
Sólidos totales	1,83 ± 0,14

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

En cuanto a sus propiedades fisicoquímicas, la densidad relativa es 0.9573 menor que la del agua, lo que sugiere que el extracto contiene sustancias como aceites, grasas, terpenos, etc. Tiene un valor de pH de 6,65 que indica que contiene sustancias ligeramente ácidas como flavonoides, fenoles, taninos, etc. (Ochoa et al., 2013: pp.52-59).

Presenta un índice de refracción de 1.36 que determina la pureza que presenta el extracto, este índice depende mucho de las sustancias con las que se extrajeron y los compuestos orgánicos presentes. El valor de sólidos totales es de $1.83 \pm 0,14$ mg/g que determina la cantidad de compuestos activos que se extrajeron de manera eficiente y según la Farmacopea Española al no ser menor a 1.20 cumple con los valores de referencia establecidos (Pumaylle et al., 2012: pp.291-302).

3.5. Cuantificación de fenoles totales

Al obtener la curva de calibración (Anexo I), nos brinda la ecuación de la recta con el fin de comparar las concentraciones de esta sustancia con sus respectivas absorbancias (Ainsworth y Gillespie, 2007: p.875).

$$y = 0.0014x + 0.0144 \quad (R^2 = 0.999)$$

En la ecuación “x” representa a la concentración en ppm, “y” representa la absorbancia. Interpolando los valores de la absorbancia obtenidos a una concentración de 1000 ppm del extracto hidroalcohólico liofilizado de *S. serrata* con la curva de calibración de ácido gálico, se obtiene el resultado siguiente.

Tabla 5-3: Cuantificación de fenoles totales

Concentración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>S. serrata</i>	Fenoles totales (mg equivalentes de ácido gálico / g de extracto)	Porcentaje (%)
1000 ug/ml en etanol al 70%	162.810 ± 2.51	16.28 ± 2.51

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

La concentración de fenoles totales es de 162.810 ± 2.51 expresados en mg de equivalente de ácido gálico por g de extracto liofilizado de *S serrata*, expresados en porcentaje es del $16.28\% \pm 2.51$ de fenoles en el extracto hidroalcohólico liofilizado.

En un estudio publicado por Rivera (2015, pp. 41-52) sobre “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y CITOTÓXICA in vitro DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE

HOJAS DE *Sigesbeckia serrata* DC” presenta 17.45% de fenoles totales, un valor muy similar al obtenido en nuestro estudio que es de 16.28%

Investigaciones realizadas en la especie *Sigesbeckia orientalis* reportan la presencia de compuestos fenólicos en un 15.84%, definiendo que el género *Sigesbeckia* presenta un buen porcentaje de fenoles (Kang, 2003, pp.231-236).

3.6. Cuantificación de flavonoides totales

Al obtener la curva de calibración de flavonoides (Anexo J) y la ecuación de la recta proporcionadas de bibliografía según Rivera (2015, pp.41-52).

$$y = 0.0014x + 0.0144 \quad (R^2 = 0.999)$$

En la ecuación de la ecuación “x” representa la concentración en ppm, “y” representa la absorbancia. Interpolando los valores de la absorbancia de la muestra en la ecuación de la curva de calibración de quercetina se obtuvo el siguiente resultado.

Tabla 6-3: Cuantificación de flavonoides totales

Concentración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>S. serrata</i>	Flavonoides totales (mg equivalentes de quercetina / g de extracto)	Porcentaje
1000 ug/ml en etanol al 70%	244.238 ± 2.89	24.42 ± 2.89

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

La concentración de flavonoides totales es de 244.238 ± 2.89 mg equivalentes de quercetina por g de extracto liofilizado de *S. serrata*, en porcentaje es del 24.42% ± 2.89 de flavonoides en extracto hidroalcohólico liofilizado, el valor obtenido concuerda con los resultados realizados en el tamizaje fitoquímico en donde se evidencio la presencia de flavonoides.

En estudios del género *Sigesbeckia* de las especies *zorullensis*, *orientalis*, *agrestis* y *serrata*, se hallaron abundante presencia de flavonoides con un concentración mayor al 16% dependiendo la especie, el clima, el tipo de tierra donde se desarrolla la planta y otros factores, atribuyendo que pueden presentar efectos antiinflamatorias gracias a su alto contenido de flavonoides (Kim, 2008, pp.1511-1514).

3.7. Preparación de gel

Se realizaron tres combinaciones de porcentajes de los extractos de *Sigesbeckia serrata*, mismos que se detallan a continuación:

Tabla 7-3: Concentración de los componentes de los diferentes geles

Componentes	Gel base	Gel 5%	Gel 10%	Gel 20%
Extracto de <i>S. serrata</i> .	0 ml	5 ml	10 ml	20ml
Carbopol 940 + Agua destilada	94 ml	91 ml	84 ml	72 ml
Glicerina	3 ml	2 ml	3 ml	4 ml
Trietanolamina (TEA)	3 ml	2 ml	3 ml	4 ml

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

Se preparó 3 frascos con gel a concentraciones de 5%, 10%, 20% de extracto de *S. serrata* y un gel base sin extracto.

3.8. Actividad antiinflamatoria in vivo

Para determinar la actividad antiinflamatoria se tomaron datos en diferentes tiempos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 horas). Como modelo animal se utilizaron 36 ratones machos del género *Mus musculus* con peso de entre 25 a 30 gramos, se dividieron aleatoriamente en 6 grupos de 6 ratones y se los codifico marcando sus colas con un punto de resaltador según el tratamiento que le correspondiese. Dando como resultado la tabla 8-3, que expresa el porcentaje de inflamación en cada hora.

Tabla 8-3: Porcentaje de inflamación en diferentes tiempos de medición

TRATAMIENTO	TIEMPO DE MEDICIÓN						
	Tiempo 1	Tiempo 2	Tiempo 3	Tiempo 4	Tiempo 5	Tiempo 6	Tiempo 7
Control Negativo (carragenina)	30,03	30,03	30,03	30,03	29,49	29,49	29,49
Blanco (vehículo)	30,60	30,60	30,60	29,00	29,00	29,00	29,00
Control Positivo (Diclofenaco 1%)	30,70	19,14	10,06	4,55	3,03	1,49	0,46
Gel 5%	29,79	27,20	25,14	22,08	21,09	18,53	15,47
Gel 10%	30,32	25,32	21,83	13,33	9,76	7,22	6,19
Gel 20%	29,30	21,22	16,17	7,55	5,51	3,50	2,49

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

La tabla 8-3, se evidencia que tanto el tratamiento control positivo Diflox® (diclofenaco 1%) así como los tratamientos con extracto liofilizado de *Sigesbeckia serrata* al 5%, 10% y 20% podrían presentar reducción de la inflamación, esto debido a que el porcentaje de inflamación desde el tiempo 1 va disminuyendo notoriamente mientras pasa el tiempo, llegando a un tiempo 7 donde se presenta el porcentaje con valores muy bajos proponiendo que puede existir el esperado efecto antiinflamatorio. El grupo control negativo y el blanco no es muy evidente una disminución en el porcentaje de inflamación ya que estos tratamientos no presentan principios activos, más bien su ligera disminución se debe a que el propio sistema inmunitario del ratón trata de reparar el tejido inflamado intencionalmente por la carragenina.

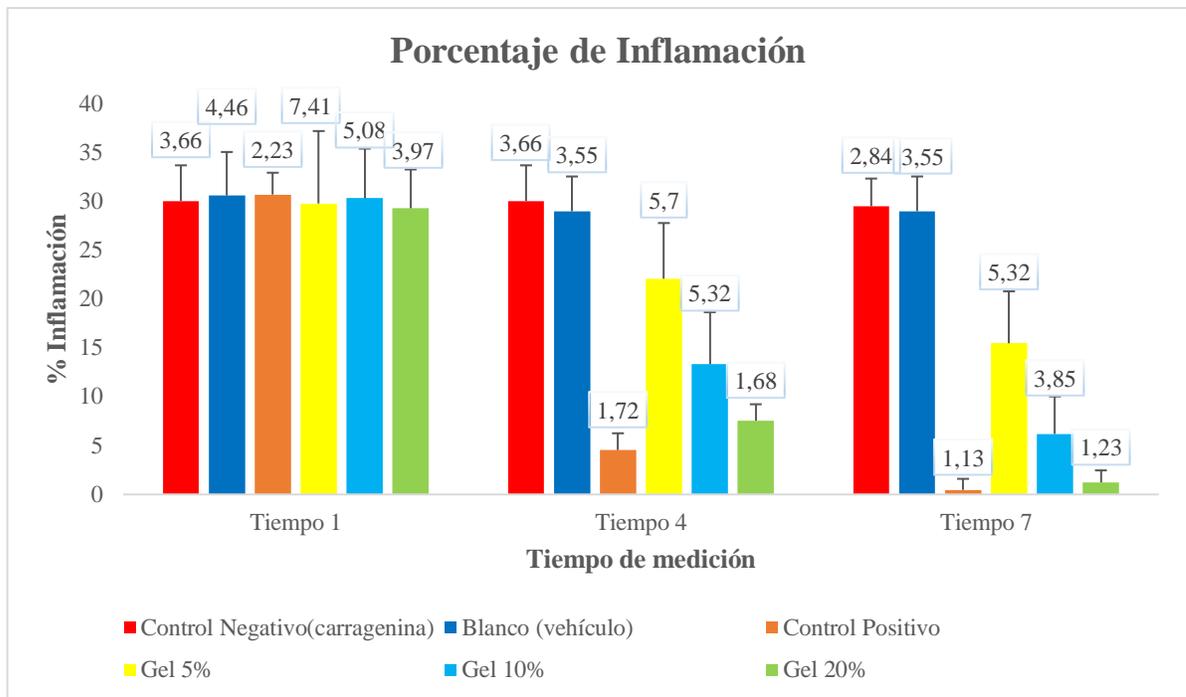


Gráfico 1-3. Porcentaje de inflamación

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

En el Gráfico 1-3, muestra que el porcentaje de inflamación tiende a disminuir mientras mayor sea el tiempo de medición y el tipo de tratamiento utilizado, atribuyendo a que el gel contiene una gran cantidad de flavonoides y fenoles, siendo estos compuestos los responsables del posible efecto antiinflamatorio según Pérez (2015, pp.48- 52). Las barras de error en el gráfico nos ayudan a corroborar la precisión de las mediciones las cuales junto a sus desviaciones estándares indican que los valores son confiables mientras mayor sea el tiempo de medición ya que tienden a disminuir en cada grupo.

3.9. Análisis estadístico

Para demostrar si se cumplen las hipótesis se realiza el Test ANOVA de un solo factor con un nivel de significancia de alfa de 0.05, con los 6 diferentes tipos de tratamientos aplicados.

Tabla 9-3: Test de ANOVA para los porcentajes de mediciones de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	15663	3132,61	48,65	0,000
Error	246	15842	64,40		
Total	251	31505			

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

Según la Tabla 9-3, con un nivel de confianza del 95%, el análisis realizado dio como resultado que $p < 0.05$, rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa la cuál menciona que existe diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos administrados. Para determinar en cuál de los tratamientos existe dicha diferencia se procede a realizar el Test de Tukey con un nivel de confianza del 95%, obteniendo el siguiente resultado.

Tabla 10-3: Análisis estadístico de medias del Test de Tukey

Factor	N	Media	Agrupación
Control Negativo (Carragenina)	42	29,802	A
Blanco (Vehículo)	42	29,684	A
Gel al 5%	42	22,76	B
Gel al 10%	42	16,28	C
Gel al 20%	42	12,25	C D
Control Positivo	42	9,92	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

Según la Tabla 10-3, al aplicar el Test de Tukey se determina cuales tratamientos son diferentes y cuales tienen una estrecha relación.

El grupo Control Negativo y el Blanco pertenecen a un mismo grupo (A) debido a que el porcentaje de inflamación se mantienen dentro de un mismo rango, no presentando disminución debido a que no presentan principio activo en sus formulaciones.

El gel al 5% es diferentes a los demás tratamientos, siendo el único del grupo (B) debido a que presenta mínima disminución del porcentaje de inflamación debido a que tiene una concentración muy baja del extracto hidroalcohólico liofilizado.

El gel al 10% y 20% pertenecen al grupo (C) ya que presentan una reducción en el porcentaje de inflamación al tener mayor cantidad de extracto liofilizado en sus formulaciones.

El gel al 20% y el Control Positivo pertenecen al grupo (D), estos son los que menor porcentaje de inflamación presentan al transcurrir 7 horas, proponiendo que el gel al 20% sería la formulación que mejor efecto antiinflamatorio pueda presentar gracias a su alto contenido de extracto.

Para corroborar los resultados obtenidos en el Test de Tukey se realizó la Prueba simultanea de Tukey para Diferencia de Medias, en la cual se comparó a cada uno de los tratamientos para así demostrar si la similitud propuesta por la prueba de Tukey es verdadera.

Tabla 11-3: Prueba simultanea de Tukey para Diferencia de Medias

Diferencia de niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
Gel al 10% - Gel al 5%	-6,48	1,75	(-11,47; -1,49)	-3,70	0,003
Gel al 20% - Gel al 5%	-10,51	1,75	(-15,50; -5,52)	-6,00	0,000
Control Positivo - Gel al 5%	-12,84	1,75	(-17,83; -7,85)	-7,33	0,000
Blanco - Gel al 5%	6,93	1,75	(1,94; 11,92)	3,95	0,001
Control Negativo - Gel al 5%	7,04	1,75	(2,05; 12,03)	4,02	0,001
Gel al 20% - Gel al 10%	-4,03	1,75	(-9,02; 0,96)	-2,30	0,193
Control Positivo - Gel al 10%	-6,36	1,75	(-11,35; -1,37)	-3,63	0,004
Blanco – Gel al 10%	13,40	1,75	(8,41; 18,39)	7,65	0,000
Control Negativo - Gel al 10%	13,52	1,75	(8,53; 18,51)	7,72	0,000
Control Positivo - Gel al 20%	-2,33	1,75	(-7,32; 2,66)	-1,33	0,767
Blanco – Gel al 20%	17,43	1,75	(12,44; 22,42)	9,96	0,000
Control Negativo – Gel al 20%	17,55	1,75	(12,56; 22,54)	10,02	0,000
Blanco – Control Positivo	19,77	1,75	(14,78; 24,76)	11,29	0,000
Control Negativo – Control Positivo	19,88	1,75	(14,89; 24,87)	11,35	0,000
Control Negativo - Blanco	0,12	1,75	(-4,87; 5,11)	0,07	1,000

Nivel de confianza individual = 99,53%

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

En la Tabla 11-3, 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 los resultados mostrados se menciona que: el Gel al 20% presenta similitud con Gel al 10% con un valor p ajustado de 0.193 (Grupo C), el Control Positivo presenta similitud con el Gel al 20% con un valor p ajustado de 0.767 (Grupo D) y el grupo Control Negativo presenta similitud con el Blanco con un valor p ajustado de 1.000 (Grupo A). La similitud encontrada mediante esta prueba permite confirmar que la prueba de Tukey fue realizada correctamente y presenta resultados verdaderos.

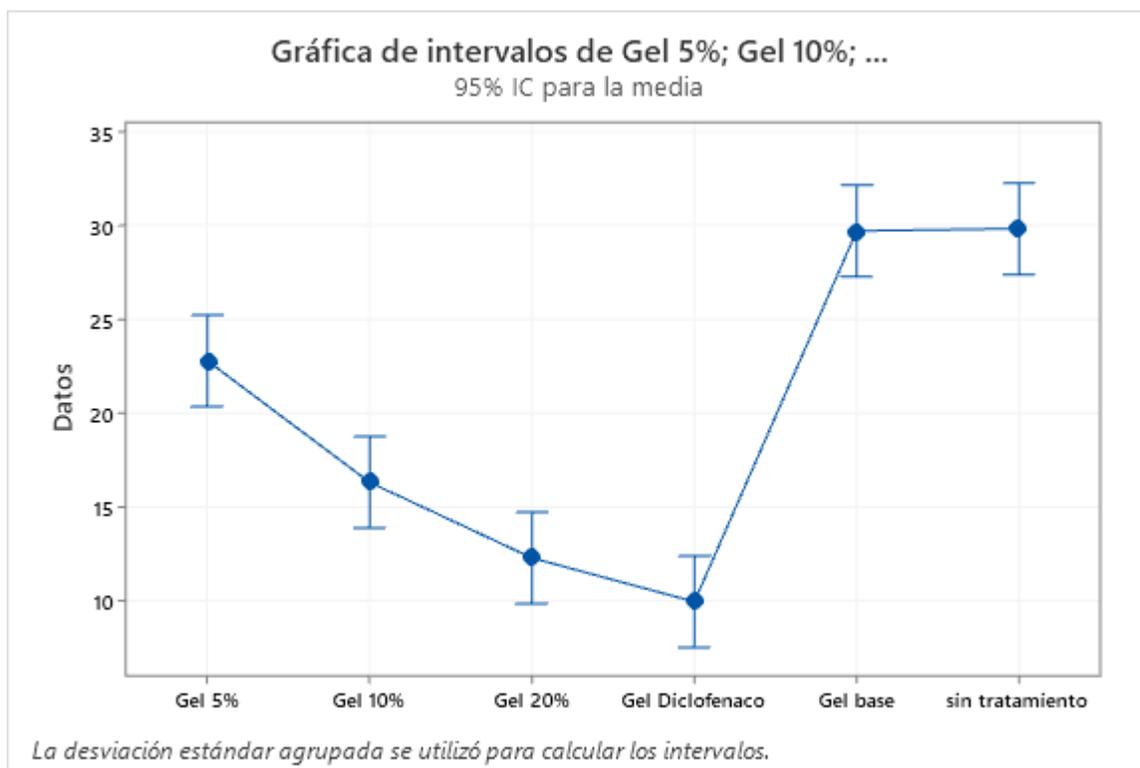


Gráfico 2-3. Gráfica de Intervalos de Inflamación

Realizado por: Llanga, Danny, 2021.

Como se puede apreciar en la Gráfica 2-3, detalla de manera visible como finaliza el proceso de inflamación al llegar al tiempo 7 con sus respectivos tratamientos, esto se llevó a cabo por medio de sus medias y utilizando la desviación estándar para calcular cada intervalo. En la gráfica, mientras los intervalos estén más cercanos a la base de la gráfica se estima que pueden presentar mayor respuesta antiinflamatoria.

CONCLUSIONES

- Con base en los resultados del tamizaje fitoquímico se estableció que es necesario realizar la cuantificación de fenoles y flavonoides para determinar un potencial efecto antiinflamatorio que pueda presentar el extracto de *Sigesbeckia serrata* en un análisis in vivo.
- La realización de los geles fue viable gracias a que la parte hidroalcohólica es compatible con los excipientes, lo que permite vehicular el extracto a concentraciones del 5%, 10% y 20%, ayudando a su estudio in vivo.
- Mediante el estudio in vivo se determinó que el gel de *S. serrata* al 20% tiene mayor actividad antiinflamatoria con una disminución media del 12.28% con relación al diclofenaco sódico 1% que presenta una disminución media de 9.92%, siendo una potencial alternativa en procesos antiinflamatorios en aplicación dérmica.

RECOMENDACIONES

- Probar nuevas formas farmacéuticas para corroborar la eficacia de la actividad antiinflamatoria del extracto de *Sigesbeckia serrata*.
- Complementar los estudios in vivo utilizando otros métodos para determinar los diferentes tipos de actividades farmacológicas con el fin de realizar un fitofármaco.
- Se sugiere realizar estudios a los alcaloides que presenta la planta *Sigesbeckia serrata* ya que posee un alto contenido de este metabolito.

BIBLIOGRAFÍA

ABBAS, A; et al. *Cellular and molecular inmunología*. Saunde, 6^a ed. 2009. pp. 886-891.

AGUIRRE, Z; et al. *Arvenses asociadas a cultivos y pastizales del Ecuador* [en línea]. 2019. pp. 75-76. [Consulta: 18 agosto 2021]. ISBN 9789978355404. Disponible en: https://unl.edu.ec/sites/default/files/archivo/2019-12/ARVENSES%20ASOCIADOS%20A%20CULTIVOS%20Y%20PASTIZALES%20DEL%20ECUADOR_compressed.pdf

AINSWORTH, E; & GILLESPIE, K. "Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent". *Nature protocols* [en línea]. 2007 vol. 2 (4). pp. 875. [Consultado: 15 julio 2021]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nprot.2007.102>.

ALLAUCA ALLAUCA, A, A. Determinación de la actividad diurética en *Oreocallis grandiflora* en ratas (*Rattus norvegicus*). [en línea] (Trabajo de Titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2017. pp. 21-51. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/7931/1/56T00744.pdf>. 5

AUSTIN, D, F. "Economic Botany". *Healing Plants of Peninsular India*. [En línea], 2012, (Puerto Rico) 56 (3). pp. 292. [Consulta: 15 septiembre 2021] Disponible en: [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2002\)056\[0292:HPOPI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2002)056[0292:HPOPI]2.0.CO;2)

BAGOZZI, D. "Centro de Prensa OMS". *Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales* [Blog]. 2014. [Consulta: 24 agosto 2021] Disponible en: www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/.

BAKIEVA, M; et al. "SPSS: ANOVA de un factor". *Gestión y análisis de datos con SPSS*. [en línea] Madrid-España: innovaMIDE. 2015. pp. 1-7. [Consulta: 28 diciembre 2021] Disponible en: https://www.uv.es/innomide/spss/SPSS/SPSS_0702b.pdf

BARDÓN, A. "Bioactive plants from Argentina and Bolivia".[en línea]. *ISSN 0367-326X*. 2017. pp. 227-231. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X07000317>.

BENEDÍ, J; & ROMERO, C. "Farmacia Profesional ".*Terapia antiinflamatoria tópica*. [en línea], 20 (5). *ISSN 02139324*. 2016. pp. 58-63. [Consulta: 14 abril 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-terapia-antiinflamatoria-topica-13088393>

BOLZAN, A. *FARMACOGNOSIA da planta ao medicamento*. 6° ed. Puerto Alegre - Brasil: Universidad Federal de Rio Grande de Sul, 2007, p. 1104

BROIDE, D. "Mecanismos inmunológicos e inflamatorios que impulsar la progresión del asma a la remodelación". *Revista de alergia e inmunología clínica*, nº 121 (2008), pp. 56- 70.

BRUMMITT, R K. *Three species of Sigesbeckia in Ecuador, Proc. Bot. Soc. Br. Isl.* [en línea]. 7(1), 2016, pp. 56-72. [Consulta: 15 mayo 2021]. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.665.4907&rep=rep1&type=pdf>

BRUNETON, J. *Farmacognosia, Fitoquímica Plantas Medicinales*. 2ª ed. Zaragoza - España: 2009, pp. 306-325

CAPASSO, R. *Farmacognosia applicata/ Controllo di qualita delle droghe vegetali*. 1° ed. Verlag - Italia: 2011, pp. 21-28.

CASTRO GOMES, A.J; et al. "Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*". *Biomedicine and Preventive Nutrition* [en línea], (2014), 4(2), pp. 121-129. [Consulta: 13 agosto 2021]. *ISSN 22105239*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bionut.2013.08.004>.

DAVID, P; et al. *El papel de los productos de ácido araquidónico en el dolor y inflamación*. 1° ed. Madrid - España: 2007, pp. 335-348.

DE LA TORRE, L; et al. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. 2º ed. Quito - Ecuador: ISBN 9789978771358, 2008, pp. 13-27.

DELANY, J. "Hormona leptina y otras influencias bioquímicas sobre la inflamación sistémica". *Revista de terapias corporales y de movimiento*, vol. 4, nº 12, (2008), pp. 121- 132.

ESCANDÓN, E, B. *Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo*. 3ª ed. Hidalgo - México: 2013, p. 60.

FAINBOIM, L; & GEFNER, J. *Introducción a la inmunología humana*. Editorial Argentina Panamericana, vol. 3, 5ª ed, 2015, p. 60.

FAJARDO, L; et al. "Tamizaje fitoquímico, control de la calidad y actividad antibacteriana del clon UF-650 en extractos de *Theobroma cacao* L". *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, nº 12, (2018) pp. 1-12.

FLÓREZ BELEDO, J; et al. *Farmacología humana*. 6º ed, Barcelona - España: 2014, pp. 824-836.

GALLEGOS ZURITA, M. "Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador". *An Fac med. Facultad de Medicina*, [en línea] 2016 (Ecuador) 77(4), pp. 327-332. [Consulta: 14 mayo 2021]. ISSN 1025-5583. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5767598>

GALLIN, J. *Inmunología fundamental*. 3º ed, México - México: 2009, pp. 721-733

GARCÍA BACALLAO, L. Plantas con propiedades antiinflamatorias". *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* [en línea]. 2018, 21(4), pp. 214- 216. [Consulta: 13 mayo 2021]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864_03002002000300012&script=sci_arttext&tlng=pt.

GLOBAL COMPOSITAE CHECKLIST (GCC). *Database of nomenclature and taxonomic*. [blog]. Sevilla: Marco Bonifacio, 21 enero 2021, 2014.[Consulta: 19 junio 2021] Disponible en: <https://compositae.landcareresearch.co.nz/Default.aspx?Page=NameSearch&searchText=Sigesbeckia>.

GOLDSTEIN, M; & SNYDERMAN, R. *Inflamación: principios básicos y correlaciones clínicas*. 2° ed. 2011, pp. 487-509,

GUERRERO, T; et al. "Tamizaje fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas y flores de *Malachra alceifolia* Jacq". *Investigación y Amazonía*. [en línea]. 2015 (Tingo Maía - Perú) 4, pp. 70-75. [Consulta: 2 octubre 2021]. ISSN 2224-445X. Disponible en: <https://revistas.unas.edu.pe/index.php/revia/article/view/73>

HANAN ALIPI, A.M; & MONDRAGÓN PICHARDO, J. *Asteraceae, Compositae*. [blog]. Mexico, 2009 [Consulta: 30 junio 2021] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/sigesbeckia-jorullensis/fichas/ficha.htm>.

HANAN ALIPI, M.A; & MONDRAGÓN, J. *Generalidades Sigesbeckia. Heike Vibrans* [blog]. México, 2012. [Consulta: 01 julio 2021]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/sigesbeckia%0A%20jorullensis/fichas/ficha.htm%0A>.

HEINRICH, G; et al. "Glandular hairs of *Sigesbeckia jorullensis* Kunth (Asteraceae): morphology, histochemistry and composition of essential oil". *Annals of Botany* [en línea], 2002, 89(4), pp. 459-469. [Consulta: 12 junio 2021]. Disponible en: <https://academic.oup.com/aob/article/89/4/459/200379>

HENNEBELLE, T; et al. "Ethnopharmacology de *Lippia alba*". *Journal of ethnopharmacology* [en línea]. 2018, pp. 138-145. [Consulta: 02 septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107006447>.

HIDALGO ALVEAR, B, M. Evaluación de la seguridad in vitro de los extractos de *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R.Br. y *Passiflora manicata* (Juss.) Pers., para su potencial aplicación en protectores solares. [en línea] (Trabajo de Titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2019, pp. 1-56. [Consulta: 10 octubre 2021]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/9707?mode=full>

HONG, Y, H; et al. "Anti-Inflammatory Effects of Siegesbeckia orientalis Ethanol Extract in In Vitro and In Vivo Models". *Hindawi Publishing Corporation*, vol. 2, n° 7 (2014) p. 10.

INSTITUTO DE BOTÁNICA DARWINION (IBODA). *Sigesbeckia serrata DC. Flora del CONOSUR*. Argentina: 2013, pp. 98-133. [Consulta: 17 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina>

ISHIZAKA, K. *La mayoría de la activación celular es una liberación de mediador. Progreso en alergia*. 3° ed. Bogota - Colombia. 2016, pp. 34-45.

KANG. "Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea". *Journal of ethnopharmacology* [en línea]. 2003, 87 (2-3), pp. 231-236. [Consulta: 11 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874103001429>.

KIM, J, Y. "In vitro anti-inflammatory activity of 3-O-methyl-flavones isolated from Siegesbeckia glabrescens". *Bioorganic & medicinal chemistry letters* [en línea]. 2008, 18 (4), pp. 1511-1514. [Consulta: 25 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X07015119>.

KOO, C; et al. *Diversidad molecular de receptores de leucocitos humanos. Adv. Prostaglandina Thromboxane Leucotriene*. 4° ed. Madrid-España: 2012, p. 191.

KUKLINSKI, C. *Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural*. Editorial Omega, Barcelona-España: 2000, p. 167-170, 206.

LARSEN, G; & HERISON, P. *Mediadores de la inflamación. Ana. Rev. Inmunol*. 2° ed. Editorial Panamericana, Cuba: 2008, p. 896.

LEÓN REGAL, M, L; et al. Respuesta inflamatoria aguda . Consideraciones bioquímicas y celulares Inflammatory Acute Response . Biochemical and Cellular. *Revista Finlay*. [en línea]. 2015, 5(1), pp. 47-62.

LIMON, D; et al. *Los flavonoides: Mecanismos de acción; Neuroprotección y Efectos Farmacológicos*. 3° ed. Editorial Omega, 2014, pp. 143-154.

LOCK, O. *Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de producto naturales*. 2a ed. Editorial P, Lima-Peru: 2008, pp. 111-126.

LORENZO, P; et al. *Farmacología Clínica y Básica*. [en línea]. 3° ed, eBook online, 2015, pp . 709-723. [Consulta: 14 noviembre 2021]. ISBN 978-84-9835-481-2. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=BeQ6D40wTPQC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

MALE, D; et al. *Cell troffic e inflamación. En: Inmunología avanzada*. 2ª ed, Londres-Nueva York: 2015, p. 652.

MANACH, C; et al. *Polyphenols: food sources and bioavailability*. 4ª ed, Editorial Omega, 2013, pp. 727-747.

MARTÍNEZ BELTRÁN, M. *Valoración de la lesión medular traumática mediante espectroscopia de RMN de protones (ERMNH1) Estudio experimental*. [en línea] (Tesis) (Maestria). Universidad de Granada, Granada-España: 2017, pp. 356-369. [Consulta: 15 junio 2021] Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/14270>

MEDELLÍN, R, A. "Mus musculus Linnaeus , 1758. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales." . *Smithsonian, Instituto de Ecología*. [en línea]. 2005 (México) 6(2), pp. 1-7. [Consulta: 12 octubre 2021] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Musmusculus00.pdf>

MEDICINES AND HEALTHCARE PRODUCTS REGULATORY AGENCY (MHRA). *Sigesbeckia. For joint and muscle pain*. [blog] 2015. [Consulta: 14 noviembre 2021] Disponible en: https://www.science20.com/edzard_ernst/sigesbeckia_chinese_herbal_medicine_given_uk_app_royal-176954

MEDINA, D; et al. *Evaluacion de actividad antiinflamatoria de una feniletilamida de critoniella acuminata*. [en línea]. vol. XIII, nº 33, Scientia Et Technica, 2007, pp. 405-407. ISSN 0122-1701. DOI 10.22517/23447214.5789. [Consulta: 03 diciembre 2021] Disponible en: https://www.academia.edu/49591251/Evaluaci%C3%B3n_de_actividad_antiinflamatoria_de_una_feniletilamida_de_Critoniella_acuminata

MERUGU, M. "Spectrophotometric Estimation of Antioxidant Activity of Siegesbeckia Orientalis Plant Extracts By Hydrogen Peroxide Scavenging Method". *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* [en línea] 2017, 6(7), 2017, pp. 1526-1531. [Consulta: 25 septiembre 2021] ISSN 2278-4357. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318298637_SPECTROPHOTOMETRIC_ESTIMATION_OF_ANTIOXIDANT_ACTIVITY_OF_SIEGESBECKIA_ORIENTALIS_PLANT_EXTRACTS_BY_HYDROGEN_PEROXIDE_SCAVENGING_METHOD

MING, O; & FLAVELL, R. *Regulación contextual de la inflamación: transformando el factor de crecimiento y la interleucina*. *Immunity*, México: vol. 3, nº 28, 2008, pp. 468- 476.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DE LA REPÚBLICA DE CUBA (MINSAP). Normas Ramales de Drogas crudas, extractos y tinturas. *NRSP*. [blog] 1992, pp. 19-23. [Consulta: 01 agosto 2021] Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543713003.pdf>

MIRANDA, M. *Farmacognosia y productos naturales*. 2º ed, La Habana: Editorial Félix Varela, 2006, pp. 23-51. ISBN 9590717942, 9789590717949.

OCHOA PACHECO, A; et al. "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 (México) 44(1), pp. 52-59. [Consulta: 11 noviembre 2021] ISSN 1870-0195. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000100007

PASCUAL CASAMAYOR, D.; et al. "Some considerations on the emergence and history of natural and traditional medicine". *MEDISAN*. [en línea]. 2015 (Cuba) 18(10), pp. 1467-1474. [Consulta: 13 mayo 2021] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192014001000019

PEDRAZA PEÑALOSA, P; et al. *Chisacá, un recorrido por los páramos andinos*. [en línea] Editorial Bogotá, Colombia: 2014, p. 213. [Consulta: 24 mayo 2021] Disponible en: <http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/31380/64.pdf?sequence=1>

PÉREZ, G. "Los Flavonoides: Antioxidantes o Prooxidantes". *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. [en línea]. 2015(Cuba), 22(1), pp. 48- 52. [Consulta: 15 octubre 2021] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007

PÉTRILLI, V; et al. El inflammasoma: mecanismos de activación. *Investigación Clínica*. [en línea] 2007 (Maracaibo), 56(1), pp. 74-93. [Consulta: 12 septiembre 2021] Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000100009

PUMAYLLE, K; et al. Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia agropecuaria*. [en línea]. 2012 (Perú), 3(4), pp. 291-302.[Consulta: 24 septiembre 2021]. ISSN-e 2077-9917. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5113830>

RIVAS MUÑOZ, R. *Patología pulpar: tipos básicos de inflamación*. [blog] 2013. [Consulta: 12 octubre 2021]. Disponible en: <https://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas7Patpulpar/inftipos.html>

RIVERA GUILCAPI, M.J. "Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria Y Citotóxica in vitro del Extracto Hidroalcohólico de Hojas de *Sigesbeckia Serrata* DC". [en línea] (Trabajo de Titulación). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. Riobamba-Ecuador: 2015, pp. 41-52. [Consulta: 02 octubre 2021]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/9558/1/56T00823.pdf>

RIVERA, J; & GILFILLAN, A. *Regulación molecular de la activación de mastocitos*. Editorial Médica Panamericana, España: vol 5, n° 117, 2012, pp. 214- 225.

RODRÍGUEZ, Z, Z; et al. "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,

48(1), pp. 2-7. [Consulta: 28 septiembre 2021]. ISSN 0253-5688. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181249883002.pdf>

ROMERO FERNANDEZ, W; et al. "EL 1, 2, 3 DE LA EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES DE LABORATORIO". *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. [en línea]. 2016, 33(2), pp. 288-299. [Consulta: 13 octubre 2021]. ISSN 17264642. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000200015

SERRA, H, A; et al. "Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico". *Medicina (Buenos Aires)*. [en línea]. 2012 (Buenos Aires-Argentina), 72(2), pp. 158-170. [Consulta: 26 septiembre 2021]. ISSN 1669-9106. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802012000200015

SIB. (SISTEMA DE INFORMACIÓN DE BIODIVERSIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN DE PARQUES NACIONALES). *Siegesbeckia serrata*. [blog]. 2019. [Consulta: 15 octubre 2021]. Disponible en: <https://sib.gob.ar/especies/siegesbeckia-serrata>.

SNYDERMAN, R. *Receptores de quimioatrayentes en células fagocíticas*. Editorial Médica Panamericana. vol 2, 3° ed. España: 2013, p. 257.

SUTTERWALLA, F; et al. *El inflammasoma en el reconocimiento de patógenos y la inflamación*. vol 4, n° 82, 2011, pp. 259- 264.

TOLEDO YUPANQUI, C, L. "Inflamacion: Mediadores Quimicos". *Revista de Actualización Clínica* [en línea], 2014, 43(4), pp. 266-269. [Consulta: 21 septiembre 2021]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v43/v43_a05.pdf.

USDA (DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE LOS ESTADOS UNIDOS). *Base de datos de plantas del Servicio de Conservación de Recursos Naturales, Sigesbeckia*. [blog] 2015. [Consulta: 15 octubre 2021]. Disponible en: <http://inabio.biodiversidad.gob.ec/2019/01/30/1-una-base-de-datos-en-linea-de-todas-las-plantas-conocidas/>

VILLALBA HERRERA E, W. "Inflamación I". *Revista de Actualización Clínica*. [en línea]. 2014, 43(1), pp. 261-265. [Consulta: 24 octubre 2021]. ISSN 2304-3768. Disponible en: https://www.academia.edu/38821014/INFLAMACION_I

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>

WINTER, C, A; et al. *Carrageenan-induced oedema in hind paw of rats-an assay for anti-inflammatory drugs*. Editorial Omega. vol 3, n° 11, 1962, pp. 544-547.

ZHANG, Y; et al. "Comparación de los perfiles químicos y los efectos inhibidores y mediadores inflamatorios de tres hierbas Siegesbeckia utilizadas como Herba Siegesbeckiae (Xixiancao)". *Complementary and Alternative Medicine*. [en línea]. 2018, 18(1), pp. 1-10. [Consulta: 26 octubre 2021]. ISSN 14726882. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29720145/>

ANEXOS

ANEXO A: SECADO Y MOLIENDA DE LA PLANTA



Gráfico 1-A: Secado y molienda de la planta

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO B: CONTROL DE CALIDAD A LA DROGA CRUDA



Gráfico 1-B: Control de calidad a la droga cruda

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO C: TAMIZAJE FITOQUÍMICO

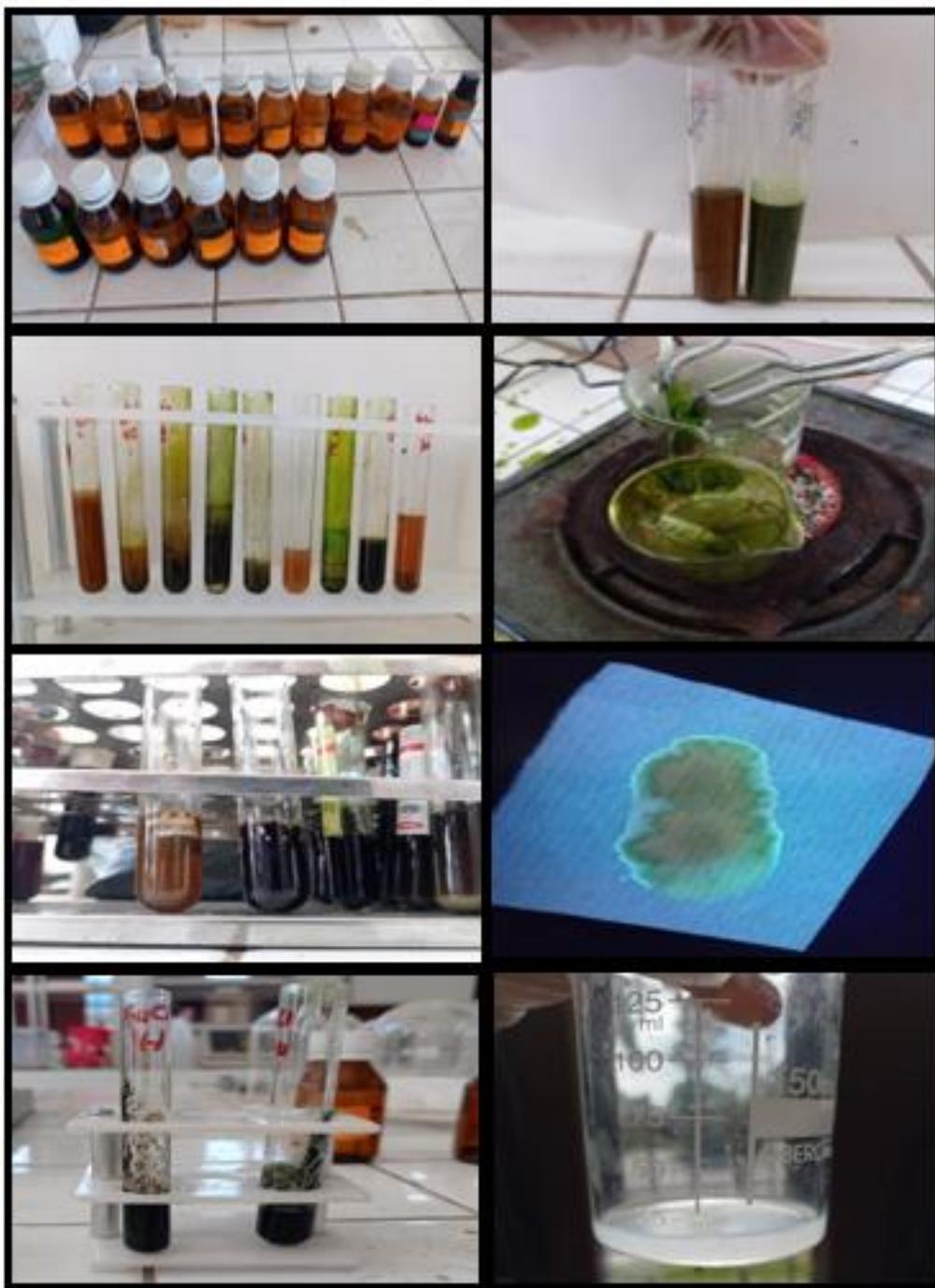


Gráfico 1-C: Tamizaje Fitoquímico

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO D: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



Gráfico 1-D: Preparación del extracto hidroalcohólico

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO E: CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



Gráfico 1-E: Control de calidad del extracto hidroalcohólico

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO F: CUANTIFICACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES



Gráfico 1-F: Cuantificación de fenoles y flavonoides a partir del extracto hidroalcohólico liofilizado

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO G: FORMULACIÓN DEL GEL



Gráfico 1-G:1. Preparación del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *S. serrata DC*

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO H: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

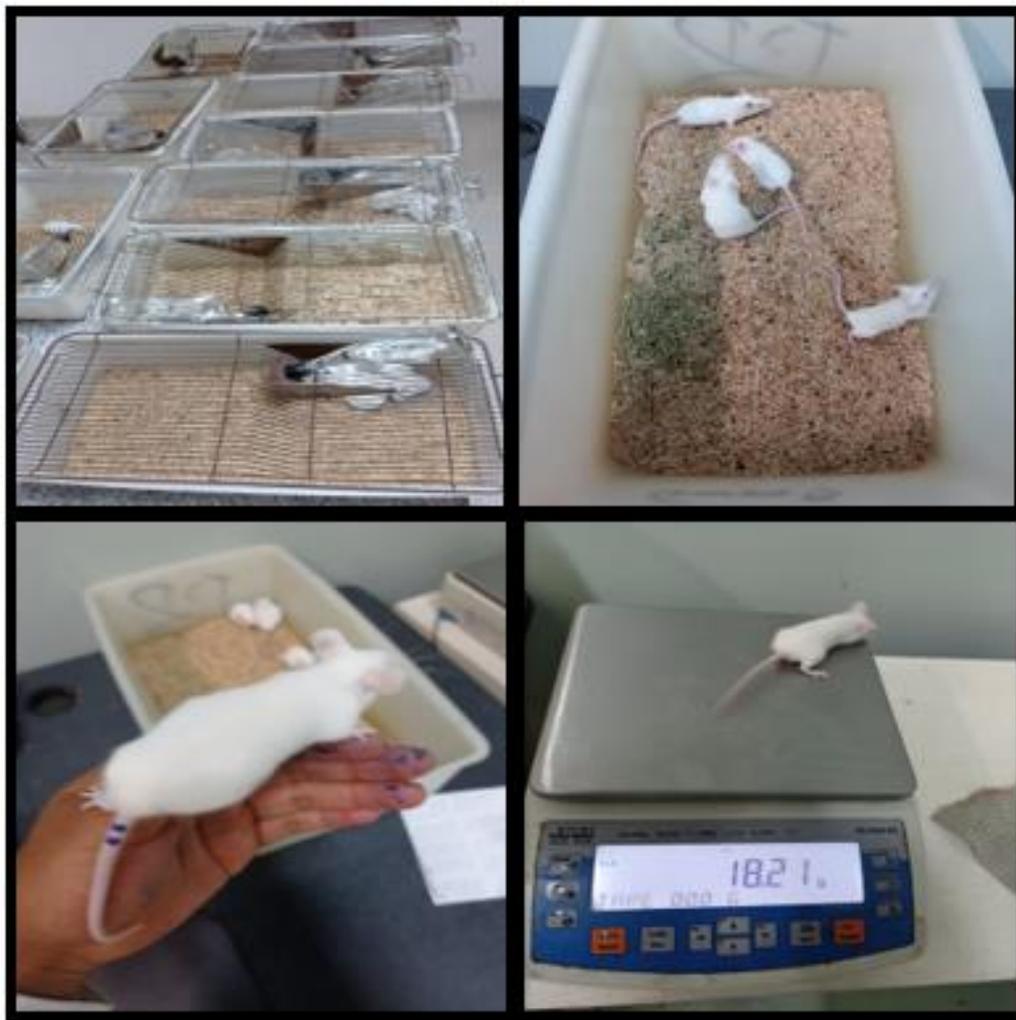


Gráfico 1-H: Evaluación de la actividad antiinflamatoria por medio de edema subplantar con carragenina

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO I: CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO

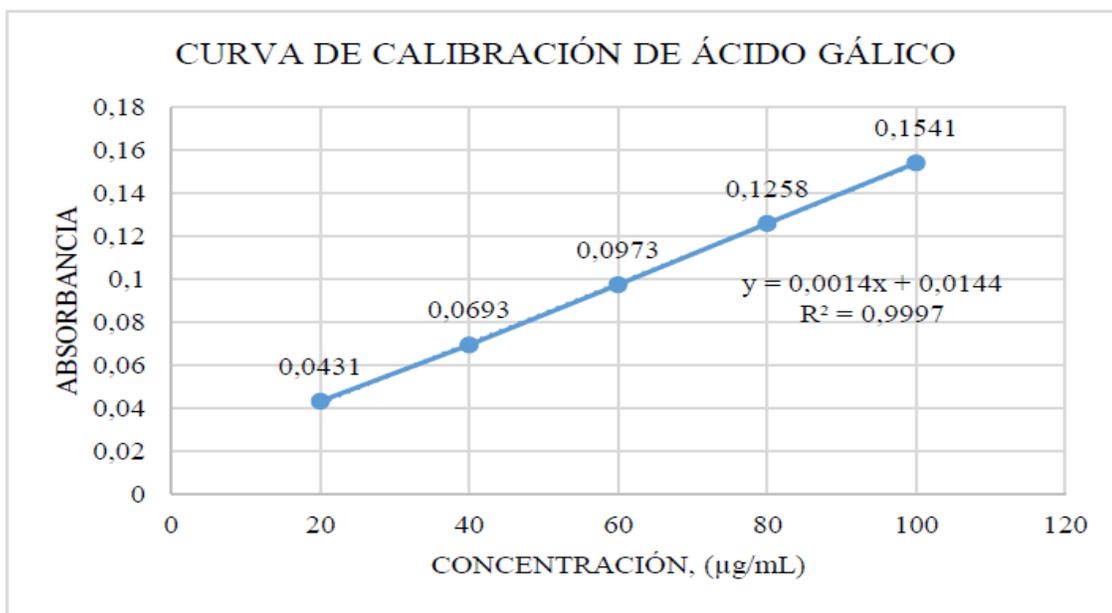


Gráfico 1-I: Curva de calibración de Ácido Gálico

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO J: CURVA DE CALIBRACIÓN DE QUERCETINA

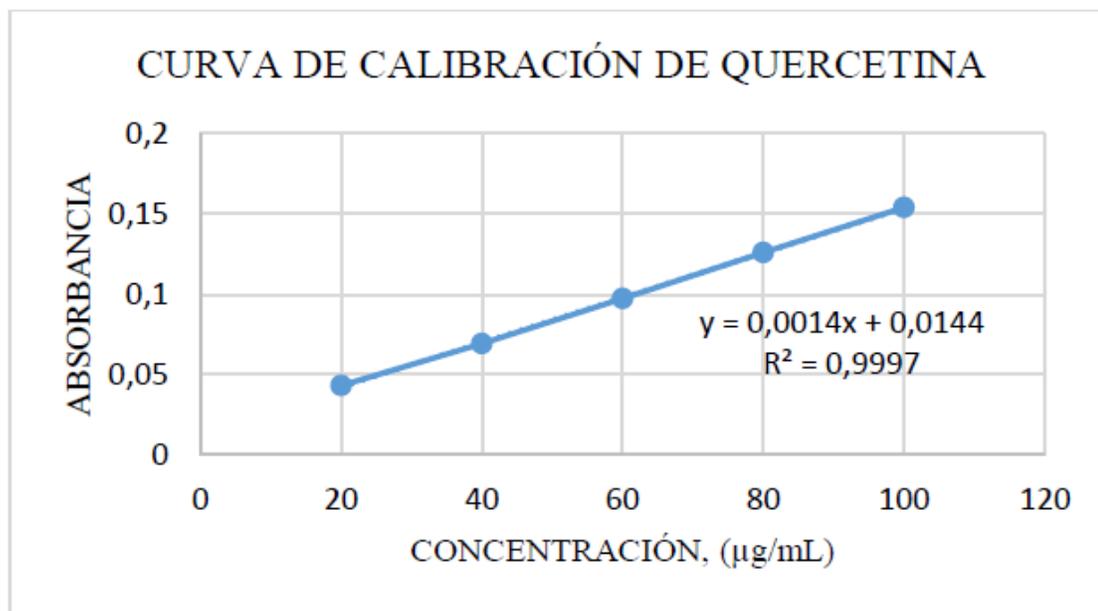


Gráfico 1-J: Curva de calibración de Quercetina

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO K: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTINFLAMATORIA

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Factor	6	Gel al 5%; Gel al 10%; Gel al 20%; Diclofenaco 1%; Blanco; Control

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	15663	3132,61	48,65	0,000
Error	246	15842	64,40		
Total	251	31505			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
8,02475	49,72%	48,69%	47,23%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Gel al 5%	42	22,76	7,38	(20,32; 25,20)
Gel al 10%	42	16,28	9,96	(13,84; 18,72)
Gel al 20%	42	12,25	9,83	(9,81; 14,69)
Diclofenaco 1%	42	9,92	10,60	(7,48; 12,36)
Blanco	42	29,684	3,750	(27,245; 32,123)
Control	42	29,802	3,092	(27,363; 32,241)

Desv.Est. agrupada = 8,02475

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Control	42	29,802	A
Blanco	42	29,684	A
Gel al 5%	42	22,76	B
Gel al 10%	42	16,28	C

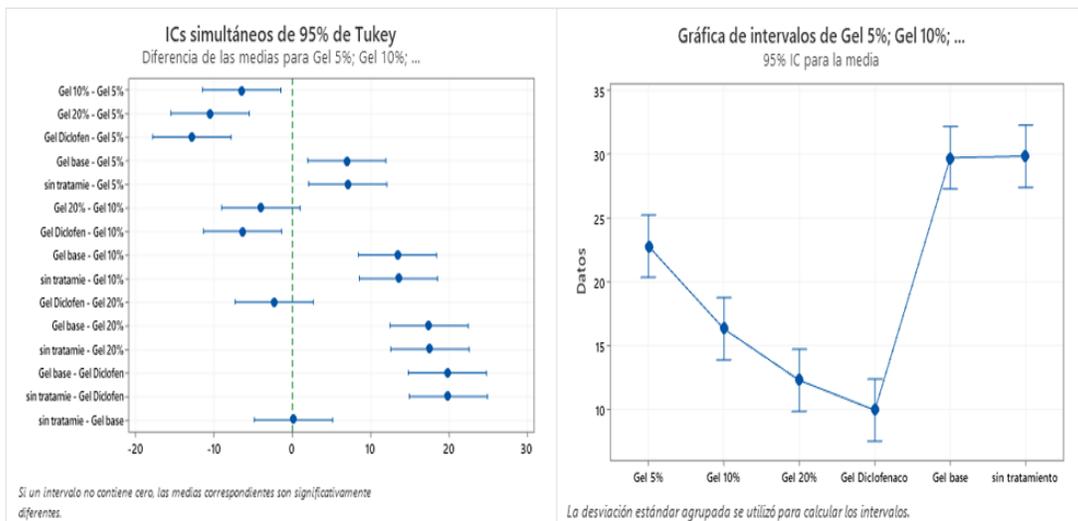
Gel al 20%	42	12,25	C	D
Diclofenaco 1%	42	9,92		D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

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 al 10% - Gel al 5%	-6,48	1,75	(-11,47; -1,49)	-3,70	0,003
Gel al 20% - Gel al 5%	-10,51	1,75	(-15,50; -5,52)	-6,00	0,000
Diclofenaco 1% - Gel al 5%	-12,84	1,75	(-17,83; -7,85)	-7,33	0,000
Blanco - Gel al 5%	6,93	1,75	(1,94; 11,92)	3,95	0,001
Control - Gel al 5%	7,04	1,75	(2,05; 12,03)	4,02	0,001
Gel al 20% - Gel al 10%	-4,03	1,75	(-9,02; 0,96)	-2,30	0,193
Diclofenaco 1% - Gel al 10%	-6,36	1,75	(-11,35; -1,37)	-3,63	0,004
Blanco - Gel al 10%	13,40	1,75	(8,41; 18,39)	7,65	0,000
Control - Gel al 10%	13,52	1,75	(8,53; 18,51)	7,72	0,000
Diclofenaco 1% - Gel al 20%	-2,33	1,75	(-7,32; 2,66)	-1,33	0,767
Blanco - Gel al 20%	17,43	1,75	(12,44; 22,42)	9,96	0,000
Control - Gel al 20%	17,55	1,75	(12,56; 22,54)	10,02	0,000
Blanco - Diclofenaco 1%	19,77	1,75	(14,78; 24,76)	11,29	0,000
Control - Diclofenaco 1%	19,88	1,75	(14,89; 24,87)	11,35	0,000
Control - Blanco	0,12	1,75	(-4,87; 5,11)	0,07	1,000

Nivel de confianza individual = 99,53%



Gráficas de residuos para Gel 5%; Gel 10%; ...

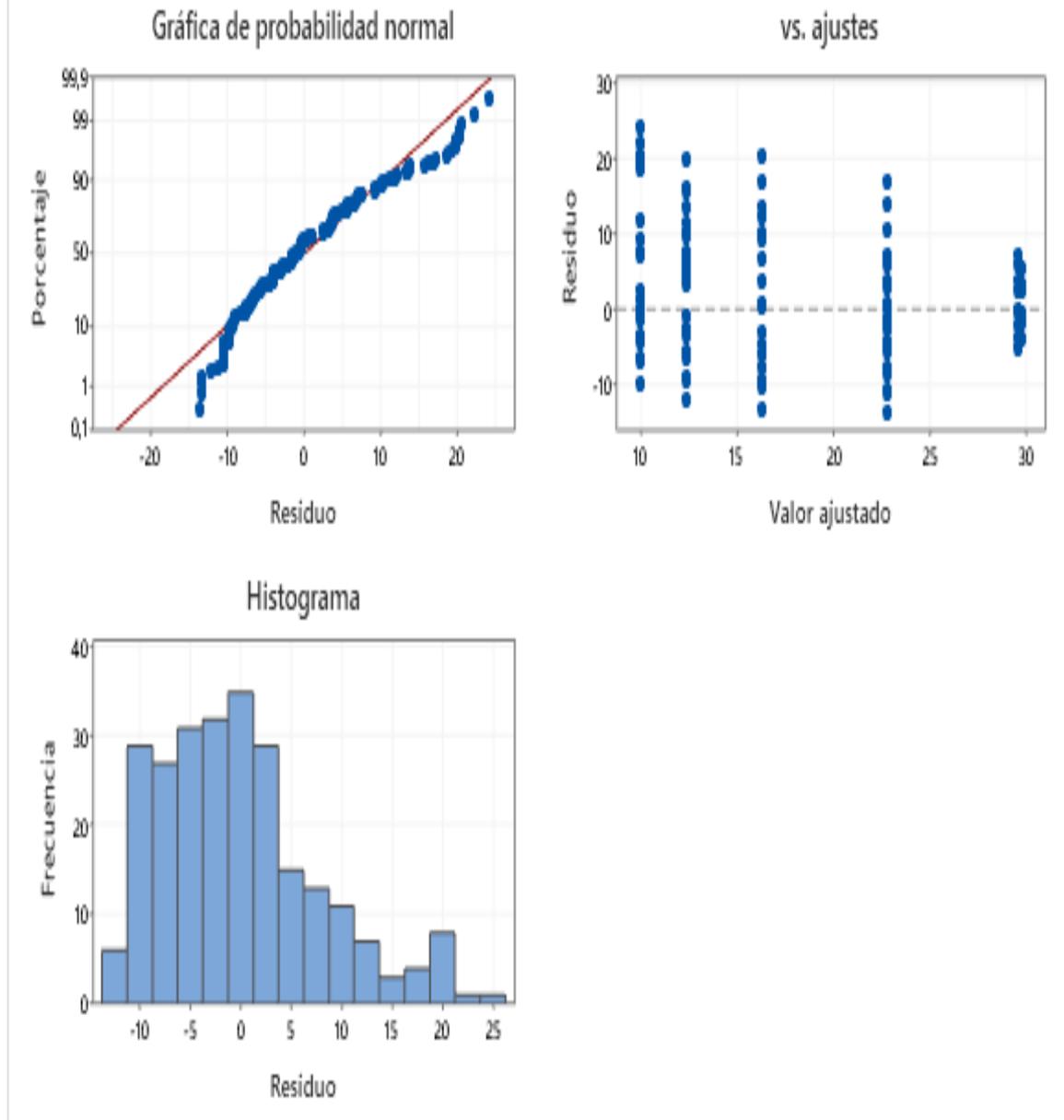


Gráfico 1-K: Gráficas de análisis estadístico

Realizado por: Llanga, Danny 2021.

ANEXO L: CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DEL HERBARIO



Loja, 15 de septiembre de 2021

A QUIEN CORRESPONDA E INTERESE:

Certificó que en el herbario “Reinaldo Espinosa” de la Universidad Nacional de Loja, el estudiante Danny Hasson Llanga Huaraca con C.I. 060436464-6, de la carrera de **Bioquímica** y Farmacia; del NOVENO PAO, de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, realizó la identificación taxonómica de la especie *Sigesbeckia serrata* DC., para lo cual empleo colecciones depositadas en el herbario, literatura especializada y el acompañamiento del personal técnico del herbario; esto como parte del trabajo de investigación denominado “Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sigesbeckia serrata*, en ratones (*Mus musculus*)”.

Es lo que certifico para los fines pertinentes.

Atentamente.,



Ing. Nelson Jaramillo Díaz – Técnico Docente
RESPONSABLE DEL HERBARIO “REINALDO ESPINOSA”

ANEXO M: AUTORIZACIÓN DE RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN *Sigesbeckia serrata*



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA No. 1399

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

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

2.- CÓDIGO

MAAE-ARSFC-2021-1399

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2021-09-27	2022-03-27

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
0604364646	LLANGA HUARACA DANNY HASSON	Ecuatoriana	3027645	Estudiante	Magnoliopsida
0603945403	QUISPILLO MOYOTA JOHN MARCOS	Ecuatoriana	3027645	Docente ocasional	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 de las hojas de *Sigesbeckia serrata* 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 las hojas de <i>Sigesbeckia serrata</i> .
Elaborar geles a diferentes concentraciones en base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Sigesbeckia serrata</i> .
Determinar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de <i>Sigesbeckia serrata</i> mediante un tamizaje fitoquímico.
Determinar la capacidad antiinflamatoria aplicando un edema plantar por inyección subcutánea de carragenina sobre ratones <i>Mus musculus</i> .

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

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
LOJA	NA	NA

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Magnoliopsida	Asterales	Asteraceae	<i>Sigesbeckia</i>	<i>Sigesbeckia serrata</i>	Hojas	3	

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	La planta será recolectada en la parroquia de Argelia (Latitud: -4.0329396, Longitud: -79.20254, Altitud: 2137 msnm), perteneciente al cantón Loja, provincia de Loja.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Se recolectara 600 gramos de planta, cantidad necesaria para la investigación, dicha cantidad con el objetivo de preservar la especie,

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Los métodos que serán empleados en el laboratorio serán: un proceso de recolección de la planta, el transporte al laboratorio, un lavado con agua a la planta y secado en estufa a 45 °C.
---	---

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	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 Reinaldo Espinosa
---------------	----------------------------

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Como resultados, se espera que después del proceso realizado a la planta, se obtenga un extracto hidroalcohólico el cual nos ayude a formular un gel a base del extracto y este gel poder probar en ratones de laboratorio (*Mus musculus*), todo este procedimiento con el fin de que presente un efecto antiinflamatorio en los animales de experimentación.

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

METAS	DESCRIPCIÓN
Resultado04.18 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.	Considerando la diversidad de reacciones adversas que aparecen tras el uso prolongado de los fármacos antiinflamatorios sintéticos, la solución a esto sería la búsqueda e investigación de nuevas estructuras y compuestos efectivos con baja toxicidad y mejor tolerabilidad, para lo cual, una fuente importante de candidatos terapéuticos serían las plantas y otros derivados naturales.

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

- Solicitud de: **LLANGA HUARACA DANNY HASSON**
- Institución Nacional Científica : **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**
- Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2022/03/12**
- 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.
- 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 responsabiliza a **LLANGA HUARACA DANNY HASSON**.

ANEXO N: AUTORIZACIÓN DE MOVILIZACIÓN DEL ESPÉCIMEN *Sigesbeckia serrata*



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

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



GUÍA N°. 00222
CÓDIGO: MAAE-ARSFC-2021-1399

DATOS DEL SOLICITANTE

N. Identificación: 0604364646
Nombres: LLANGA HUARACA DANNY HASSON

DATOS DEL RESPONSABLE DE LAS MUESTRAS O ESPECÍMENES A TRANSPORTAR

N° de C.I / Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Transportista
0604364646	LLANGA HUARACA DANNY HASSON	Ecuatoriana	Si
0603945403	QUISPILLO MOYOTA JOHN MARCOS	Ecuatoriana	No

ORIGEN

Provincia
LOJA

Tipo de Transporte: Terrestre

DESTINO

Provincia	Cantón	Parroquia
CHIMBORAZO	RIOBAMBA	LIZARZABURU

Centro de Tenencia: Herbario Reinaldo Espinosa

FECHA DE MOVILIZACIÓN

Desde: 2021-09-15	Hasta: 2021-09-18
-------------------	-------------------

MATERIAL BIOLÓGICO A MOVILIZAR

Especie	Tipo de Muestra	Número Muestra	Lote Muestra
Plantae-Asterales- Magnoliopsida-Sigesbeckia- Sigesbeckia serrata	Hojs	3	N/A



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

*UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL*

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 21 / 04 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Danny Hasson Llanga Huaraca</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Bioquímica y Farmacia</i>
Título a optar: <i>Bioquímico Farmacéutico</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

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-
EQUIPE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2022.04.21 10:33:53 -05'00'



0715-DBRA-UTP-2022