



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

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN  
VIVO EN RATONES (*Mus musculus*) DEL FRUTO DEL MORTIÑO  
(*Vaccinium floribundum* Kunth)**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: ANTONY FABRICIO VELATA PAGUAY**  
**DIRECTORA: BQF. VALERIA ISABEL RODRIGUEZ VINUEZA**

Riobamba – Ecuador

2024

**©2024, Antony Fabricio Velata Paguay**

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, Antony Fabricio Velata Paguay, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como 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, 13 de mayo del 2024

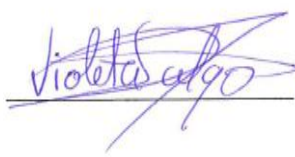




**Antony Fabricio Velata Paguay**

**060492767-3**

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

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO EN RATONES (*Mus musculus*) DEL FRUTO DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum Kunth*)**, realizado por el señor: **ANTONY FABRICIO VELATA PAGUAY**, 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.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2024-05-13
BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinueza <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-05-13
BQF. Irvin Ricardo Tubón Usca <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-05-13

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser quien ser mi protector y sobre todo me da salud y vida para que todo lo que realice me vaya super bien.

A mi madre que siempre estar ayudándome, siendo un apoyo fundamental día a día y por ser una gran mamá.

A mis abuelitos, sé que están en el cielo, pero esto va por ustedes por ser quienes me enseñaron, me cuidaron, me protegieron y fueron como un padre y una madre.

A mi familia porque siempre están ahí cuando los necesito, por compartir sus conocimientos que me ayudan mucho.

A mis amigos que junto a ellos hemos formado una familia y poder apoyarnos mutuamente

Antony

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme salud, bienestar y sabiduría para poder cumplir todo lo que me propongo, también por acompañarme y cuidarme para que todo me salga bien.

Agradezco a mi madre por ser un apoyo fundamental para lograr cada paso que doy, sobre todo el esfuerzo que ha hecho para que tenga una familia muy bonita y lograr que sea una persona buena y siempre le agradeceré porque ella es la que día a día me ayuda a aprender y ser una persona mejor cada día y sobre todo ser una persona más fuerte.

Agradezco a mis abuelitos porque ellos son mis segundos padres que en todo momento me ayudaban, me apoyaban y siempre me enseñaban cosas muy bonitas que hoy en día son de gran ayuda para seguir paso a paso que doy en mi vida.

Agradezco a mi familia por formar parte en lograr cada sueño que estoy cumpliendo, porque me aconsejan, me enseñan de la vida y sobre todo que nunca me han abandonado.

Antony

## ÍNDICE DE CONTENIDO

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

### CAPÍTULO I

<b>1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Planteamiento del problema.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Justificación.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Objetivos .....</b>	<b>4</b>
<i>1.3.1. Objetivo general.....</i>	<i>4</i>
<i>1.3.2. Objetivos específicos.....</i>	<i>4</i>

### CAPÍTULO II

<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Antecedentes de investigación .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Referencias teóricas.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.1. Actividad inflamatoria .....</b>	<b>6</b>
<i>2.2.1.1. Inflamación .....</i>	<i>6</i>
<i>2.2.1.2. Clasificación de la inflamación .....</i>	<i>7</i>
<i>2.2.1.3. Fases de la inflamación .....</i>	<i>8</i>
<i>2.2.1.4. Componentes de la inflamación.....</i>	<i>8</i>
<i>2.2.1.5. Medidores celulares y químicos de la inflamación.....</i>	<i>9</i>
<i>2.2.1.6. Proceso de la inflamación.....</i>	<i>10</i>
<b>2.2.2. Fármacos antiinflamatorio no esteroideos .....</b>	<b>11</b>

2.2.2.1. <i>Clasificación de los AINEs</i> .....	12
2.2.2.2. <i>Mecanismo de acción</i> .....	12
2.2.2.3. <i>Diclofenaco</i> .....	13
2.2.2.4. <i>Efectos secundarios de los AINEs</i> .....	14
<b>2.2.3. <i>Biodiversidad del Ecuador</i></b> .....	14
<b>2.2.4. <i>Mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)</i></b> .....	15
2.2.4.1. <i>Taxonomía</i> .....	15
2.2.4.2. <i>Composición química y nutricional</i> .....	15
2.2.4.3. <i>Uso medicinal</i> .....	16
<b>2.2.5. <i>Flavonoides</i></b> .....	16
<b>2.2.6. <i>Fenoles totales</i></b> .....	17
<b>2.2.7. <i>Extracto botánico</i></b> .....	17
<b>2.2.8. <i>Animales de experimentación (Ratones Mus Musculus)</i></b> .....	18
2.2.8.1. <i>Taxonomía</i> .....	18
2.2.8.2. <i>Ventajas del uso de animales de investigación</i> .....	18
2.2.8.3. <i>Desventajas del uso de animales de investigación</i> .....	19
2.2.8.4. <i>Bioética del uso de animales de investigación</i> .....	19
<b>2.2.9. <i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo</i></b> .....	20

### CAPÍTULO III

<b>3. MARCO METODOLÓGICO</b> .....	21
<b>3.1. Enfoque, diseño y alcance</b> .....	21
<b>3.2. Diseño experimental</b> .....	21
3.2.1. <i>Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo</i> .....	21
3.2.2. <i>Criterios de inclusión</i> .....	21
3.2.3. <i>Criterios de exclusión</i> .....	21
3.2.4. <i>Hipótesis</i> .....	21
3.2.5. <i>Identificación de variables</i> .....	22
<b>3.3. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación</b> .....	22
<b>3.3.1. <i>Materiales, equipos y reactivos</i></b> .....	22
3.3.1.1. <i>Material vegetal</i> .....	22
3.3.1.2. <i>Material biológico</i> .....	22
3.3.1.3. <i>Materiales de laboratorio y otros</i> .....	22
3.3.1.4. <i>Equipos</i> .....	23
3.3.1.5. <i>Reactivos</i> .....	23



<b>3.3.2. Técnicas y métodos</b> .....	23
3.3.2.1. <i>Recolección del material vegetal</i> .....	23
3.3.2.2. <i>Preparación del material vegetal</i> .....	24
3.3.2.3. <i>Obtención del extracto etanólico</i> .....	25
3.3.2.4. <i>Porcentaje de rendimiento</i> .....	26
3.3.2.5. <i>Cuantificación de flavonoides totales</i> .....	26
3.3.2.6. <i>Cuantificación de fenoles totales</i> .....	26
3.3.2.7. <i>Determinar la actividad antioxidante</i> .....	27
3.3.2.8. <i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria</i> .....	28
3.3.2.9. <i>Análisis de datos</i> .....	30

## CAPÍTULO VI

<b>4. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS</b> .....	31
4.1. <b>Porcentaje de rendimiento de los extractos</b> .....	31
4.2. <b>Cuantificación de flavonoides totales</b> .....	32
4.3. <b>Cuantificación de fenoles totales</b> .....	34
4.4. <b>Determinación de la actividad antioxidante</b> .....	38
4.5. <b>Evaluación de la actividad antiinflamatoria</b> .....	39
4.5.1. <i>Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria por el método edema plantar</i> .....	39
4.5.2. <i>Análisis estadístico</i> .....	43
4.5.3 <i>Dosificación con actividad antiinflamatoria</i> .....	45

## CAPÍTULO V

<b>5. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN</b> .....	47
5.1.1 <b>CONCLUSIÓN</b> .....	47
5.1.2 <b>RECOMENDACIÓN</b> .....	48

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b> Medidores químicos .....	10
<b>Tabla 2-2:</b> La clasificación de los AINES según su estructura química: .....	12
<b>Tabla 2-3:</b> Clasificación taxonómica del mortiño .....	15
<b>Tabla 2-4:</b> Clasificación taxonómica del ratón de experimentación: .....	18
<b>Tabla 3-1:</b> Tabla de materiales del laboratorio usados según la técnica .....	22
<b>Tabla 3-2:</b> Tabla de equipos usados según la técnica .....	23
<b>Tabla 3-3:</b> Tabla de reactivos usados según la técnica .....	23
<b>Tabla 3-4:</b> Preparación de reactivos para el método edema plantar .....	28
<b>Tabla 3-5:</b> Diseño de la evaluación de la “actividad antiinflamatoria” in vivo por edema plantar. .....	30
<b>Tabla 4-1:</b> Rendimiento del extracto.....	31
<b>Tabla 4-2:</b> Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i> .....	32
<b>Tabla 4-3:</b> Prueba de comparación múltiples de Tukey de flavonoides totales .....	34
<b>Tabla 4-4:</b> Resultados de la cuantificación de fenoles totales de los extractos del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i> .....	35
<b>Tabla 4-5:</b> Prueba de comparación múltiples de Tukey de fenoles totales .....	37
<b>Tabla 4-6:</b> Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i> .....	38
<b>Tabla 4-7:</b> Prueba de comparación múltiples de Tukey de la capacidad antioxidante.....	39
<b>Tabla 4-8:</b> Resultados de las áreas de inflamación de los diferentes tratamientos y tiempos....	40
<b>Tabla 4-9:</b> Resultados de los porcentajes de inhibición inflamatoria.....	41
<b>Tabla 4-10:</b> Análisis estadístico con el Test de ANOVA para los tratamientos .....	43
<b>Tabla 4-12:</b> Análisis estadístico con el Test de Tukey y Dunnett.....	44
<b>Tabla 4-11:</b> Tabla de comparación de medias que son significativamente diferentes .....	45

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b> Diferentes escenarios de la inflamación dependiendo las causas desencadenantes .....	6
<b>Ilustración 2-2:</b> Linfocitos frente a un antígeno .....	9
<b>Ilustración 2-3:</b> Proceso de la Inflamación.....	11
<b>Ilustración 2-4:</b> Mecanismo de acción de los AINEs .....	13
<b>Ilustración 2-5:</b> Estructura química del diclofenaco sódico .....	13
<b>Ilustración 2-6:</b> Estructura general de los flavonoides .....	17
<b>Ilustración 2-7:</b> Estructura general de los fenoles .....	17
<b>Ilustración 3-1:</b> Preparación del material vegetal.....	24
<b>Ilustración 3-2:</b> Obtención del extracto .....	25
<b>Ilustración 3-3:</b> Proceso de preparación de las dosificaciones de los extractos etanólicos .....	29
<b>Ilustración 4-1:</b> Curva de calibración del estándar de quercetina.....	32
<b>Ilustración 4-2:</b> Contenido de flavonoides totales .....	33
<b>Ilustración 4-3:</b> Curva de calibración del estándar de ácido gálico.....	35
<b>Ilustración 4-4:</b> Contenido de fenoles totales .....	36
<b>Ilustración 4-5:</b> Áreas en las regiones inflamadas a diferentes tiempos y a los diferentes tratamientos.....	40
<b>Ilustración 4-6:</b> Porcentajes de inhibición a los diferentes tiempos y tratamientos.....	42

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A.** Recolección del material vegetal “fruto del mortiño”
- ANEXO B.** Secado del material vegetal “fruto del mortiño”
- ANEXO C.** Triturado y maceración del material vegetal “fruto del mortiño”
- ANEXO D.** Extracto blando de *Vaccinium floribundum Kunth*
- ANEXO E.** Animales de experimentación
- ANEXO F.** Ambientalización de los ratones de experimentación
- ANEXO G.** Etiquetado a los grupos experimentación para la administración
- ANEXO H.** Preparación de diferentes concentraciones del extracto y de grupos de control
- ANEXO I.** Obtención de los valores cualitativos en el programa Image J.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**AINEs:** Antiinflamatorios no esteroideos

**COX:** Ciclooxigenasa

**C5a:** Anafilotoxina

**ECV:** enfermedades cardiovasculares

**IL:** Interleucina

**TNF:** Factor de necrosis tumoral

**USP:** Farmacopea de Estados Unidos

**NSAID:** Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug

**PGE2:** Prostaglandina E2

**LOX:** Lipoxigenasa

**LPS:** Lipopolisacáridos

## RESUMEN

La inflamación es una respuesta del organismo, que puede ser aguda o crónica dependiendo de la naturaleza de la afección, para aliviar estas afecciones recurren a fármacos sintéticos sin necesidad de prescripción médica pero que conllevan efectos adversos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño) con el fin de obtener alternativas terapéuticas. Los extractos se realizaron a proporción 96:4, 80:20, 50:50 y 20:80 (etanol 96%: agua). Por medio de técnicas espectrofotométricas se cuantificó de fenoles totales con estándar de ácido gálico, los flavonoides totales con estándar de quercetina y la evaluación de la capacidad antioxidante se realizó mediante el método con el radical DPPH. La actividad antiinflamatoria se determinó mediante la técnica de edema plantar; con los animales de experimentación (*Mus musculus*) se formó 6 grupos cada uno con 5 ratones a las mismas se les administró de 30, 100 y 300 mg/kg de extracto, se obtuvo el área de la inflamación de la pata del ratón por medio del programa imageJ y así obteniendo el porcentaje de inhibición, para en análisis estadístico se usó el sistema SPSS con los test de ANOVA de un factor, Tukey-B y Dunnett. El extracto de proporción 80:20 tiene un mejor porcentaje de rendimiento (51,68%). En la cuantificación de fenoles se obtuvo 46,63 mg EAG/g, mientras que para flavonoides totales 140,57 mgEQ/mL. A la vez, alcanza una capacidad antioxidante de 53,29 % de inhibición de radicales libres. Finalmente se determinó la actividad antiinflamatoria siendo las dosis de 100 y 300mg/kg de extracto las que disminuye significativamente la inflamación de la pata del ratón. Se concluye que los extractos con mayor concentración presentan una buena actividad antiinflamatoria. Se recomienda evaluar la toxicidad de las distintas dosis.

**Palabras clave:** <ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA> <FENOLES> <FLAVONOIDES> <MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)> <EXTRACTO ETANÓLICO> <FARMACOLOGÍA>.

0837-DBRA-UPT-2024



## ABSTRACT

Inflammation is a response of the organism, which can be acute or chronic depending on the nature of the affection. To alleviate these affections, synthetic drugs are used without the need for medical prescription but with adverse effects. The objective of the present investigation was to evaluate the anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of the fruit of *Vaccinium floribundum* Kunth (Mortino) to obtain therapeutic alterations. The extracts were made at 96:4, 80:20, 50:50, and 20:80 (ethanol 96%: water) ratios. Utilizing spectrophotometric techniques, total phenols were quantified with gallic acid standard, total flavonoids with quercetin standard, and the antioxidant capacity was evaluated by the DPPH radical method. The anti-inflammatory activity was determined by employing the plantar edema technique. The experimental animals (*Mus musculus*) were divided into 6 groups, each with 5 mice. They were administered 30, 100, and 300 mg/kg of the extract. The area of inflammation of the mouse paw was obtained utilizing the imageJ program and thus obtaining the percentage of inhibition. For the statistical analysis of the SPSS, the system ANOVA was used with Tukey-B and Dunnett tests of one factor. The 80:20 ratio extract has a better yield percentage (51.68%). In the quantification of phenols, 46.63 mg EAG/g was obtained, while for total flavonoids 140.57 mgEQ/mL. At the same time, it reached an antioxidant capacity of 53.29 % inhibition of free radicals. Finally, the anti-inflammatory activity was determined, being the doses of 100 and 300mg/kg of extract that significantly decreased the inflammation of the mouse paw. It is concluded that the extracts with higher concentrations present a good anti-inflammatory activity. It is recommended to evaluate the toxicity of the different doses.

**Key words:** <ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY> <PHENOLS> <FLAVONOIDS>  
<MORTINOUS (*Vaccinium floribundum* Kunth)> <ETHANOLIC EXTRACT>  
<PHARMACOLOGY>.



.....  
Ing. Romel Francisco Calles Jiménez  
0603877713

## INTRODUCCIÓN

La inflamación es una función protectora producida por el organismo, liberándose ante diversos estímulos o agresiones provocados por el medio. La inflamación es parte fundamental en el organismo como una respuesta, pero puede ser aguda o crónica dependiendo de la naturaleza de la afección. La fase aguda actúa de inmediato (en cuestión de minutos) y dura poco; se caracteriza por migración de neutrófilos, extravasación de proteínas plasmáticas y líquidas conocida como edema. La fase crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos, linfocitos, proliferación vascular, fibrosis y destrucción de tejidos. La inflamación se detiene al inhibir los factores que causan el daño. (Pamuk, Kantarci 2022, pp. 186-196)

Para prevenir o reducir la inflamación, es común la administración de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) ya sea con prescripción médica o sin ella. Este grupo de fármacos son utilizados principalmente por su rápida respuesta ante efectos como el dolor, el tumor u otros, pero se evidencia que estos fármacos pueden ocasionar reacciones adversas, ocasionalmente afectando algunas funciones tal como gastrointestinal, cardiovascular y renal. (Panchal, Prince Sabina 2023, pp. 113-598)

Debido a los riesgos que ocasiona los fármacos sintéticos, en la actualidad el uso de la medicina alternativa o tradicional permite reducir riesgos adversos, obtener mayores beneficios y reducirá los problemas de salud; dentro de esto se prioriza el uso de las plantas con actividad antiinflamatorias como una alternativa en los tratamientos. Por lo que, en Ecuador al ser un país con megadiverso se puede encontrar alrededor de 150 especies con actividad antiinflamatoria, tal es el caso de *Vaccinium floribundum Kunth*. (Meléndez et al 2021, pp. 109–120)

El mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), también conocido como uva de monte, es una planta nativa de los páramos de Ecuador, especialmente abundante en la provincia de Tungurahua. Esta especie crece sin necesidad de cuidados especiales y es de libre acceso. Sus frutos, jugosas bayas, son ricos en antioxidantes, polifenoles, antocianinas y vitamina C, lo que les confiere propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. El consumo de mortiño ayuda a prevenir enfermedades como diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide, cáncer y obesidad, reduciendo así los riesgos y la mortalidad asociada a estas condiciones. (Guerrero 2019, pp. 12-29)

Por lo tanto, en el presente estudio de tipo experimental, buscamos evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de fruto del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) en ratones *Mus musculus*, utilizando un modelo de experimental mediante edema plantar.



## CAPÍTULO I

### 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Planteamiento del problema

A nivel mundial existen distintas enfermedades o afecciones que dañan el desarrollo y metabolismo del ser humano, comenzando con una inflamación aguda hasta ocasionar una enfermedad inflamatoria crónica. La inflamación es un proceso fisiológico generado de forma natural en el organismo, pero en ocasiones, cuando el estado inflamatorio es prolongado, tiende a causar enfermedades graves tales como diabetes, cáncer, demencia, cardiopatías, artritis y depresión. (Germolec et al 2018, pp. 57-79)

La inflamación es una respuesta inmunitaria ante diferentes factores ocasionados por el medio que nos rodea, la magnitud de la respuesta inflamatoria es importante en el organismo, ya que si esta es insuficiente causaría en inmunodeficiencia y si es excesiva o exagerada no beneficia al organismo, sino que causaría morbilidad y mortalidad en enfermedades, conllevando al consumo de fármacos sintéticos. (González, Padrón 2019, pp. 38-50)

Para reducir los signos y síntomas de la inflamación, la mayoría de la población busca medicamentos antiinflamatorios que rápido acceso, sin tener en cuenta los efectos no deseados que podrían producir, entre los medicamentos más utilizados son Antiinflamatorios no esteroides (AINEs), estudios realizados en Ecuador en el 2020, se estima que la prevalencia de consumo diario de AINEs es del 34,34% en pacientes adultos mayores, utilizados para tratar los síntomas o enfermedades menores por nuestra cuenta. (Chen Hsiang et al 2023, pp.32-46)

Los AINEs están incluidos entre los medicamentos más utilizados a nivel terapéutica, según Organización Mundial de la Salud (OMS), son medicamentos muy comunes y efectivos para reducir el dolor y la inflamación, pero presenta el 25% de efectos adversos, que conllevan riesgos gastrointestinales, cardiovasculares y renales, especialmente cuando se toman un largo tiempo o en dosis altas. A nivel cardiovasculares, en el 2018, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) ha emitido advertencias que los AINEs pueden ocasionar efectos dañinos tal como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y además están asociados a otros riesgos como hepatotóxica o reacciones de hipersensibilidad graves. (Alcántara, Sánchez 2016, 18-34)

El consumo de medicamentos con actividad antiinflamatorios de venta libre implica a la automedicación siendo de gran preocupación en el sistema de salud, ya que conlleva al uso irracional de medicamento, tiene la posibilidad de aumentar el riesgo de efectos secundarios, toxicidad o incluso muerte. En los países latinoamericanos, especial en Ecuador la automedicación aumenta significativamente y no teniendo control de la misma. (Ramos dos Santos et al 2022, pp. 1789–1802)

## 1.2 Justificación

Los fármacos sintéticos antiinflamatorios son grupos farmacológicos relevantes, debido a que su consumo es muy frecuente gracias a su acción farmacoterapéutica, ya que funciona como analgésico y antiinflamatorio, pero que tiene inconvenientes por su toxicidad en el organismo, por lo que, se pretende buscar nuevos tratamientos antiinflamatorios de origen vegetal, reduciendo los efectos adversos, utilizando la medicina herbaria para la obtención de extractos de las drogas vegetales con efecto terapéutico para sustituir los tratamientos convencionales, ya que, la medicina alternativa es una forma para prevenir y tratar una amplia variedad de dolencias y enfermedades de la forma más natural posible. (do Nascimento et al 2023, pp. 76-88)

Las especies vegetales con actividad antiinflamatoria son alternativas para mejorar o combatir diferentes síntomas que cursan con inflamación, por ello, actúan como métodos de prevención y tratamiento de diversos indoles como: dolores articulares, “inflamación de calor”, inflamación de y de bajos costos. En Ecuador es un país megadiverso por su riqueza de variedad de plantas medicinales que se utiliza de muchas maneras: como materia prima, extractos, productos químicos puros o semisintéticos. Actualmente, las plantas medicinales desempeñan un papel importante como una fuente de salud que contribuyen al desarrollo de la medicina botánica con pocas probabilidades de causar toxicidad. (Bravo 2014, pp. 14-29)

Ecuador tiene aproximadamente 150 especies vegetales con actividad antiinflamatoria, entre ellas se ha evidenciado que las especies de *Vaccinium* con actividad antiinflamatoria. Plantas que contiene compuestos polifenoles le da la actividad antiinflamatoria y antioxidante, ayuda a reducir la inflamación en el cuerpo y aliviar dolores y la inflamación asociada con enfermedades crónicas, también protege a las células del daño causado por radicales libre, manteniendo un equilibrio en el proceso oxido reducción en las células. (Meléndez et al 2021, pp. 109–120)

Estudios han demostrado que existen diversas variedades de especies de *Vaccinium*, destacando que principalmente en el fruto contiene una gran cantidad de compuesto, entre ellos los flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, proantocianidinas, estilbenos y taninos, que presentan

gran actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antiviral, antibacteriana y antifúngica, por este motivo se realiza una investigación de la especie *Vaccinium floribundum Kunth* con el fin de demostrar que tiene actividad antiinflamatoria ya que, es una planta nativa de Ecuador, que se encuentra en la provincia Tungurahua, son especies que no necesitan de cuidados, ya que, crecen en los páramos de Ecuador, lo que se convierte en una especie de libre acceso. (Guerrero 2019, pp. 13-25)

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo en ratones *Mus musculus* del extracto etanólico del fruto *Vaccinium floribundum Kunth* “mortiño”.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Cuantificar la presencia de fenoles y flavonoides totales en los extractos etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth*
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth*, a diferentes concentraciones en ratones *Mus musculus* con inflamación inducida, mediante la técnica de carragenina.
- Determinar la concentración del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* con mejor actividad antiinflamatoria, previamente inducido a la técnica de carragenina

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de investigación

El mortiño, es una especie vegetal que se destaca por su actividad medicinal y nutritiva, debido al alto contenido de vitaminas, y especialmente polifenoles, quien le provee el efecto antioxidante, lo cual le confiere una actividad terapéutica preventiva contra enfermedades como diabetes, cáncer y la obesidad. Por otra parte, se ha observado que las antocianinas presentes en el mortiño son capaces de regular la expresión de citoquinas y enzimas proinflamatorias lo que reducir la respuesta inflamatoria en macrófagos. (Zúñiga 2017, pp. 10-29)

García, en el año 2017, en Ecuador, hace mención que los frutos del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) presentan una mayor capacidad antioxidante (sustancias que protegen las células) en el organismo. Los frutos presentan diversos metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, llamados compuestos polifenoles. Los polifenoles son considerados de gran interés farmacológico, debido a sus propiedades antioxidantes y son mediadores de la respuesta inflamatoria entre otras acciones en el sistema inmune. (García 2017, pp. 91-159)

En una investigación titulada “CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS, FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL FRUTO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum kunth*) EN LA SIERRA DEL ECUADOR” se comprueba mediante varios análisis y varios tipos de ensayos, que los extractos de material vegetal de la especie *Vaccinium*, que posee compuestos fenólicos que está relacionado con las propiedades farmacológicas y medicinales (Guerrero 2019, pp. 13-25). Además, se evidencia los niveles de polifenoles fueron significativamente más altos en el fruto que en las hojas. (Llvisaca et al 2018, pp. 934–942)

Los polifenoles tienen acción antioxidante ya que capta radicales libres provocando un estrés oxidativo, permitiendo más efectos como antitrombóticos, vasodilatadores, y se ha demostrado que tiene actividad antiinflamatoria. Al ser producido en el interior vegetal permite reducir la incidencia de enfermedades cardiovasculares, circulatorias, neoplásicas e inflamación. Los polifenoles existen varias clases y subclases que se divide en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales que poseen, un subgrupo son flavonoides y antracilinas. (Guerrero 2019, pp. 12-27)

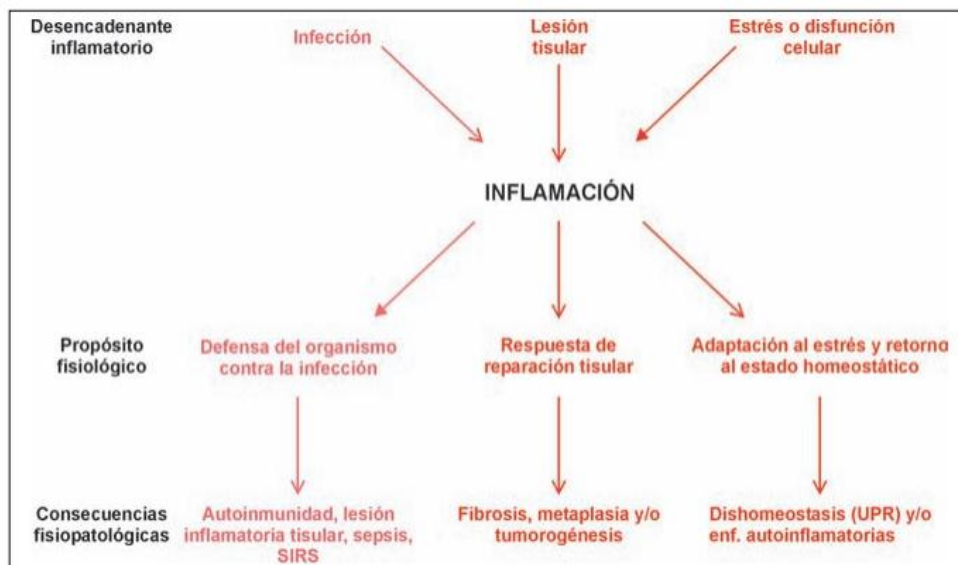
Estudio titulado “MARKERS OF INFLAMMATION”, menciona que el sistema inmunitario realiza una serie de procesos complejos y específicos, que actúan muchas células y moléculas para controlar el agente dañino, de tal forma que si existe unas ligeras modificaciones en el mecanismo provoca alteraciones que posteriormente provocaría una disfunción inmunitaria tales como enfermedades autoinmunes, procesos inflamatorios descontrolados, entre otros. La inflamación es una respuesta natural del sistema inmune a causa de un daño en el organismo, empieza con inflamación aguda, pero al ser mal cuidadas ocasionan inflamaciones crónicas dando lugar a más enfermedades. (Germolec et al 2018, 38-97)

## 2.2 Referencias teóricas

### 2.2.1 Actividad inflamatoria

#### 2.2.1.1 Inflamación

La inflamación es un proceso o reacción defensiva que se da de forma natural en el sistema inmunológico en el organismo como una respuesta al daño causado a las células y tejidos vascularizados por agentes dañinos como son microorganismos, traumatismo, necrosis, agentes químicos o físicos, entre otros. La inflamación es un proceso que requiere de un enorme gasto de energía metabólica ya que es una respuesta reparadora. (González, Padrón 2019, pp. 30-40)



**Ilustración 2-1:** Diferentes escenarios de la inflamación dependiendo las causas desencadenantes

**Fuente:** (Germolec et al., 2018)

El proceso de la inflamación inicia con una fase aguda que es una respuesta de inmediata y por alteraciones en el organismo puede conllevar a reacciones sin control conocida como inflamación maligna, conllevando al fracaso funcional de los diferentes órganos y sistemas “fracaso multiorgánico” e incluso a la muerte del individuo. En la ilustración 2-1, se muestra cómo actúa la inflamación dependiendo de la causa que lo desencadena. (Germolec et al 2018, 30-40)

#### 2.2.1.2 Clasificación de la inflamación

La clasificación de la inflamación se basó de la siguiente manera según (Chen et al 2018, 19-40):

a) Por su duración

- Aguda: es una inflamación de acción rápida y duración corta frente al agente agresor, cuyo propósito es liberar mediadores de defensa del organismo a la zona de la lesión.
- Crónico: es un proceso de acción lenta y extensa, hallando la destrucción tisular y la inflamación se encuentra activa donde se da intentos repetitivos de reconstrucción.

b) Por la naturaleza del exudado

- Trasudado: es la aparición de líquido inflamatorio extravascular con diminuto contenido proteico, resultado de un leve cambio en la permeabilidad vascular.
- Exudado: es la aparición de líquido inflamatorio extravascular con elevado contenido proteico, lo cual muestra mucha permeabilidad en los vasos sanguíneos.

c) Por etiología

- Infecciosas: se da por microorganismos como bacterias, virus, parásitos o toxinas.
- Traumáticas: golpes potentes con respuesta rápida o lenta, como sucede con los esguinces o higromas.
- Térmicas: quemaduras por calor o congelamiento
- Irradiaciones
- Por contacto agentes químicos
- Necrosis tisular
- Presencia de cuerpo extraños como vidrios, piedras
- Inmunitarias
- Reacciones de hipersensibilidad o desarrollo colagenopáticos.

d) Características morfológicas del exudado

- Serosa: por aglomeración de líquido tisular de poco contenido proteico.
- Fibrinosa: con existencia de exudado con masivas cantidades de fibrinógeno.
- Supurativa o purulenta: se identifica por la producción de exudado purulento que consiste de leucocitos y células necróticas.
- Abscesos: muestra tejido inflamatorio purulento acompañado de necrosis licuefactiva.
- Ulceras: resultado de un tejido gangrenado (tejido necrótico inflamado)

e) Por su ubicación

- Focales: formada en zonas y órganos específicos, denominando con el sufijo -itis, como faringitis, conjuntivitis, etc.
- Diseminados: es el producto de la propagación de desarrollo inflamatorio permanente ya sea por vía canalicular, metástasis o fistulización.

### 2.2.1.3 Fases de la inflamación

Según (Germolec et al 2018, pp. 30-40) y (Aldaz et al 2022, pp. 648-660) indica que se dan cinco fases de inflamación:

1. Liberación de mediadores: la mayor parte son moléculas, donde los mastocitos sintetizan o liberan estructuras esenciales frente a determinados estímulos extraños.
2. Efectos de los mediadores: Para permitir la llegada de moléculas y células inmunes liberadas al foco inflamatorio, se produce alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos
3. Transporte: Por medio del sistema circulatorio "sangre" llegan las moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.
4. Regulación del proceso inflamatorio: se da una serie de mecanismos inhibidores una vez finalizado o equilibrado el proceso inflamatorio.
5. Reparación: comienza la reparación parcial o completa de los tejidos dañados por el agente agresor o por la misma respuesta inflamatoria.

### 2.2.1.4 Componentes de la inflamación

Los componentes de la inflamación se basaron en (León et al 2015, pp. 47-62) indicando dos clasificaciones:

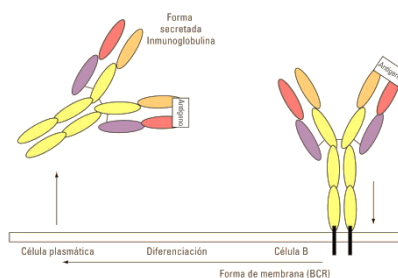
a) Respuestas inflamatorias tres componentes

- Cambios hemodinámicos: la primera reacción que se produce es foco inflamatorio, que facilitara el paso para los otros componentes. Después de la agresión se presenta la vasoconstricción arteriola con prolongación reducida, que sucederá en poco tiempo, pero en lesiones graves la vasoconstricción dura entre 5 minutos produciendo a continuación la dilatación progresiva que afecta a las arteriolas.
- Alteraciones de la permeabilidad: Cuando ocurre la inflamación, hay un paso del líquido hacia los tejidos de 5 a 6 veces mayor que en condiciones fisiológicas. La alta capacidad de contenido proteico en el exudado inflamatorio, puede ser similar al del plasma, que se da en un proceso distinto al mecanismo fisiológico del transporte de líquidos.

b) Modificaciones leucocitarias: El acceso de los leucocitos, en especial los neutrófilos y monocitos, a través de la pared de los vasos sanguíneos establece la fase celular más importante de la inflamación aguda.

2.2.1.5 Medidores celulares y químicos de la inflamación

Uno de las principales células que actúan frente a un agente extraño son los leucocitos que son glóbulos blancos, son células con núcleo y se pueden clasificar en dos grupos que son los siguientes: poliformonucleados o granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los agranulocitos (monocitos y linfocitos), dentro de los linfocitos tenemos al linfocito T y B, siendo el linfocito B quien se encarga de los anticuerpos que son útiles en un proceso de inflamación.(Zhang et al 2023, pp. 45-76)



**Ilustración 2-2:** Linfocitos frente a un antígeno

**Fuente:** (Zhang et al., 2023)

Los medidores químicos son sustancias endógenas que se encuentran en el plasma y tejidos, son muy útiles para procesos de inflamación y juega un papel importante en la homeostasis del



organismo, entre ellos esta los sistemas d las cininas, sistema complemento, el sistema de coagulación y el sistema fibrinolítico. Por otra parte, en los tejidos podemos encontrar una serie de medidores químicos tales como aminas, lípidos ácidos, componentes lisosomales y productos generados por los linfocitos. En la tabla 2-1 se evidenciará algunos medidores químicos clasificados según (González, Padrón 2019, pp. 33-76) :

**Tabla 2-1:** Medidores químicos

<b>Efectos</b>	<b>Medidores</b>
Vasodilatación	Óxido nítrico Histamina
Aumento de permeabilidad vascular	Aminas vasoactivas C3a-C5a Bradicinina Leucotrienos C4, D4, E4 Sustancias P
Quimiotaxis, reclutamiento y activación leucocitaria	C5a Leucotrienos B4 Quemokinas IL-1, TNF Productos bacterianos
Fiebre	IL-1, TNF Prostaglandinas
Dolor	Prostaglandinas Bradicinina
Daño tisular	Enzimas lisosómicas Radicales libres de oxígeno Óxido nítrico

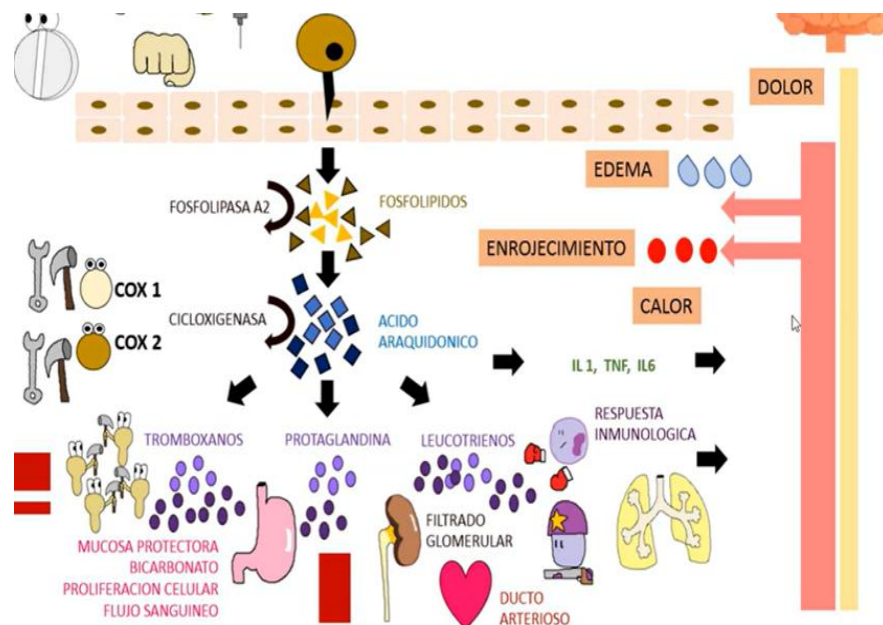
Fuente: (González & Padrón, 2019)

Realizado por: Velata A., 2024

#### 2.2.1.6 *Proceso de la inflamación*

La inflamación es una respuesta biológica compleja a estímulos dañinos, como infecciones, lesiones físicas o irritantes químicos. El proceso se inicia cuando las células inmunitarias innatas, como los macrófagos y las células dendríticas, detectan patógenos o daños celulares mediante

receptores específicos. Esto desencadena la liberación de mediadores inflamatorios, incluyendo citoquinas, quimiocinas, prostaglandinas y leucotrienos, que provocan vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Estas acciones permiten que más células inmunitarias, especialmente neutrófilos, lleguen al sitio de la inflamación. Los neutrófilos y macrófagos fagocitan y destruyen patógenos y células dañadas, mientras que citoquinas antiinflamatorias y mediadores resolutivos ayudan a reducir y resolver la inflamación. En la fase final, las células madre y progenitoras proliferan y se diferencian, formando tejido de granulación que posteriormente se remodela en tejido maduro y funcional. Si la regeneración completa no es posible, se forma tejido cicatricial. Este proceso es esencial para eliminar agentes dañinos y reparar tejidos, pero debe estar cuidadosamente regulado para evitar daño excesivo o inflamación crónica. (Germolec et al 2018, 30-40)



**Ilustración 2-3:** Proceso de la Inflamación

Fuente: (Germolec et al., 2018)

### 2.2.2 Fármacos antiinflamatorio no esteroideos

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos o AINE, son fármacos muy utilizados y son excelentes para el tratamiento de inflamaciones agudas o crónicas, que además de sus propiedades antiinflamatorias actúan como antipiréticos y analgésicos. Por su mecanismo de acción deben ser llamados tanto antiinflamatorios como proantiinflamatorios, ya que son inhibidores de las prostaglandinas específicamente COX-1 y COX-2. (Zhang et al 2023, pp. 32-56)

Se considera que los AINEs más frecuentes, inhiben el COX-1 sería la responsable de los efectos adversos gastrointestinales, plaquetarios, renales y entre otros, pero que sus beneficios terapéuticos dependerían de la inhibición de la COX-2, sin inhibir el COX-1 para obtener su actividad antiinflamatoria. (Ramos dos Santos et al 2022, pp. 43-78)

### 2.2.2.1 Clasificación de los AINEs

**Tabla 2-2:** La clasificación de los AINES según su estructura química:

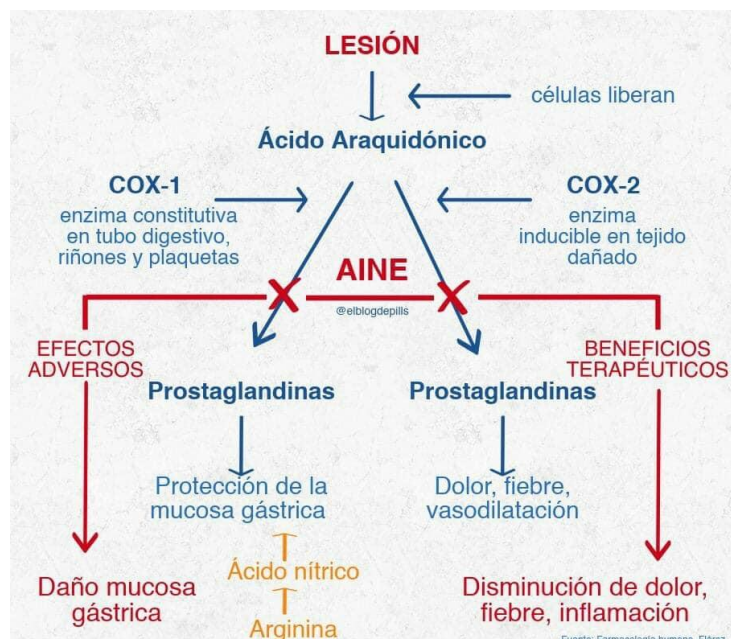
GRUPO TERAPÉUTICO	FÁRMACOS
SALICILATOS	Ácido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
PIRAZOLONAS	Fenilbutazona
INDOLACÉTICOS	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
ARILACÉTICOS	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
ARILPROPIÓNICOS	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno
OXICAMS	Y Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
ANÁLOGOS	
FENAMATOS	Ácido mefenámico, meclofenamato
INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Fuente:(Keb, 2022)

Realizado por: Velata A., 2024

### 2.2.2.2 Mecanismo de acción

Los AINES inhiben la función en la enzima ciclo-oxigenasa (COX), produciendo la reducción de la síntesis de la prostaglandina y tromboxanos a partir de ácido araquidónico. La prostaglandina provoca del dolor, inflamación y fiebre. En los diferentes tejidos su función es la encargada de la mayoría de los efectos terapéuticos como adversos de los AINES. (Keb 2022, pp. 38-47)

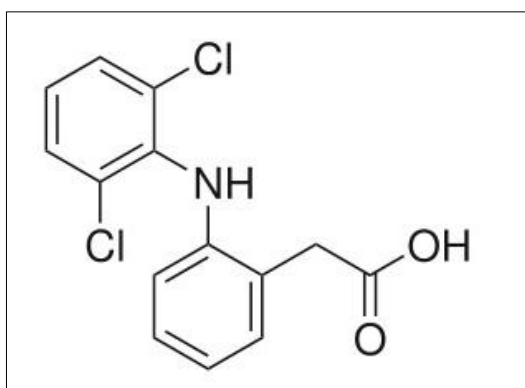


**Ilustración 2-4:** Mecanismo de acción de los AINEs

Fuente:(Guérmes et al., 2021)

### 2.2.2.3 Diclofenaco

El diclofenaco sódico es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo por lo que actúa sobre la Ciclooxygenasa (COX), su efecto deriva de la reducción de prostaglandinas. Además, tiene actividad analgésica y antipirética. También inhiben la síntesis de ADN bacteriano mediante efectos bacteriostáticos. Una de las funciones fundamentales en el tratamiento farmacológico de dolor agudo y crónico. (Guérmes et al 2021, pp. 33-98)



**Ilustración 2-5:** Estructura química del diclofenaco sódico

Fuente:(Guérmes et al., 2021)

El diclofenaco es eficaz en la superación del dolor y la inflamación cuando inhibe la COX-2. Tiene la capacidad de unirse a ambas formas de COX (COX-1 y COX-2) e inhibe la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas pro-inflamatorias por medio de reacción de quelación. (Keb 2022, pp. 38-46)

#### 2.2.2.4 *Efectos secundarios de los AINEs*

Según (García et al 2018, pp. 324-331) los efectos secundarios de los AINEs son:

- **Malestar gastrointestinal:** Los AINEs pueden irritar el revestimiento del estómago y aumentar el riesgo de úlceras estomacales y sangrado gastrointestinal. Esto puede causar síntomas como dolor abdominal, acidez estomacal, náuseas, vómitos y heces con sangre.
- **Daño renal:** El uso prolongado o excesivo de AINEs puede dañar los riñones y aumentar el riesgo de insuficiencia renal, especialmente en personas con enfermedades preexistentes en los riñones o en aquellas que toman otros medicamentos que afectan la función renal.
- **Riesgo cardiovascular:** Algunos estudios han sugerido que ciertos AINEs pueden aumentar ligeramente el riesgo de eventos cardiovasculares graves, como ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares, especialmente en personas con factores de riesgo cardiovascular preexistentes.
- **Afectación del sistema nervioso central:** Algunas personas pueden experimentar efectos secundarios como mareos, somnolencia, dolor de cabeza, confusión o cambios de humor al tomar AINEs.
- **Reacciones alérgicas:** Aunque raras, algunas personas pueden desarrollar reacciones alérgicas graves, como erupciones cutáneas, hinchazón facial o dificultad para respirar.
- **Problemas de la coagulación sanguínea:** Los AINEs pueden interferir con la función plaquetaria y aumentar el riesgo de sangrado, especialmente en personas que toman anticoagulantes o que tienen trastornos de la coagulación.
- **Afectación del hígado:** En casos raros, el uso de AINEs puede provocar daño hepático, que se manifiesta mediante síntomas como ictericia (coloración amarillenta de la piel y los ojos), dolor abdominal y cambios en las pruebas de función hepática.

#### 2.2.3 *Biodiversidad del Ecuador*

Para el Convenio sobre la Diversidad Biológica, Ecuador es uno país con gran biodiversidad considerado como megadiverso, ya que, nuestro país es rico en distintas formas de vida y de ecosistemas, sobre todo, al ser un país con mayor biodiversidad encontramos múltiples plantas

medicinales ayudando al campo de la medicina, logrando descubrir nuevas alternativas farmacológicas. (Bravo 2014, pp. 1-10)

#### 2.2.4 *Mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)*

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) es una fruta de la familia de las Ericáceas que crece en forma silvestre en los páramos y bosques húmedos montañosos de los Andes, entre 1 400 y 4 350 msnm. Esta familia tiene gran diversidad geográfica en países de Sudamérica tales como Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia. (Coba et al 2012, 17-20)

Es un arbusto pequeño generalmente de 1 a 3.5 m de altura, con hojas pequeñas, coriáceas, elípticas a lanceoladas u ovaladas y márgenes finamente aserrados, las inflorescencias son racimos que salen de las axilas de tallos y hojas, con 6 a 10 flores pequeñas con cáliz articulado, corola con forma de olla de color blanco, rosa o rojo y un fruto pequeño, redondeado, color morado en su forma madura y abundante. (Aldaz et al 2022, 34-76)

##### 2.2.4.1 *Taxonomía*

En la tabla 2-3 se indica la clasificación taxonómica del mortiño:

**Tabla 2-3:** Clasificación taxonómica del mortiño

CLASIFICACIÓN	NOMBRE
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
N. Científico	<i>Vaccinium floribundum Kunth</i>

Fuente:(Zúñiga, 2017)

Realizado por: Velata A., 2023

##### 2.2.4.2 *Composición química y nutricional*

En la fitoquímica de *Vaccinium floribundum Kunth* se encuentra una variedad de componentes químicos y nutricionales, se caracterizan por su alto contenido de compuestos fenólicos. Se han reportado que su composición química está conformada principalmente por quercetina, derivados del ácido hidroxicinámico y cianidina3-glucosido. Se determinaron que alrededor del 67% de los

compuestos fenólicos totales corresponden a antocianinas (345mg cianidina/100 g fruto fresco), de los cuales aproximadamente el 89% son derivados de la cianidina (cianidina galactósido, cianidina glucósido, cianidina arabinósido). Además, hay en menor proporción delfinidina y dos de sus derivados: delfinidina galactósido y delfinidina arabinósido, así como también, cianidina y delfinidina como agliconas. (Vasco et al 2009, pp. 36-54)

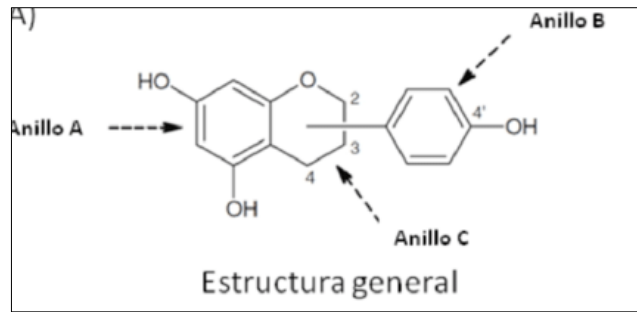
#### 2.2.4.3 *Uso medicinal*

Los frutos de *Vaccinium floribundum* son ricos en antioxidantes, como los flavonoides y los polifenoles, que pueden ayudar a proteger las células y los tejidos del cuerpo del daño causado por los radicales libres y el estrés oxidativo. Según algunas investigaciones se cree que ayuda a reducir la inflamación en el cuerpo y aliviar el dolor asociado con enfermedades inflamatorias como la artritis y las lesiones musculares, también a nivel cardiovascular ayudando a reducir los niveles de colesterol LDL ("colesterol malo") y triglicéridos en la sangre, y promoviendo la salud de los vasos sanguíneos, además controla los niveles de glucosa en la sangre, lo que puede ser beneficioso para personas con diabetes o en riesgo de desarrollar esta enfermedad. Por último, pueden ayudar a fortalecer el sistema inmunológico, ayudando al cuerpo a combatir infecciones y enfermedades. (Meléndez et al 2021, pp. 109–120)

#### 2.2.5 *Flavonoides*

Son un grupo de compuestos fenólicos producidos por el metabolismo secundario de la planta, son bioactivas se provee que no son tóxicas que presentan una gran variedad de efectos biológicos (prevención de enfermedades coronarias, cáncer, desórdenes gastrointestinales e inflamación), son moléculas que son beneficiosas por medio de su estructura ya que se pueden modificar. Sobre todo, la acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. También relacionadas en la inhibición de enzimas relacionadas con la actividad inflamatoria. (Alberto et al 2007, 14-32)

La inhibición de enzimas inflamatorias: Algunos flavonoides tienen la capacidad de inhibir la actividad de enzimas proinflamatorias, como la ciclooxigenasa (COX) y la lipooxigenasa (LOX). Estas enzimas están implicadas en la producción de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas y leucotrienos. Al bloquear estas enzimas, los flavonoides pueden reducir la producción de mediadores inflamatorios y atenuar la respuesta inflamatoria. (Aldaz et al 2022, 30-43)

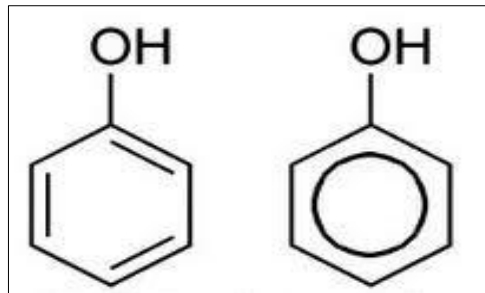


**Ilustración 2-6:** Estructura general de los flavonoides

Fuente: (Aldaz et al., 2022)

### 2.2.6 *Fenoles totales*

Los fenoles son un subgrupo de compuestos fenólicos que contienen un grupo hidroxilo (OH), unido a un carbono del anillo aromático, constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios, su acción farmacológica se basa en su acción como antioxidantes en sistemas vivos gracias a su capacidad para eliminar radicales libres y permitiendo que inhiba a ciertas enzimas que favorecen a la actividad antiinflamatoria. (Tobar et al 2011, pp. 12-32)



**Ilustración 2-7:** Estructura general de los fenoles

Fuente: (Tobar et al., 2011)

### 2.2.7 *Extracto botánico*

Los extractos vegetales son preparados que se obtienen de la extracción de diferentes sustancias a partir de diversos procesos, como: maceración, fermentación, infusión, decocción y esencias. La extracción se basa principalmente en obtener principios activos presentes en cada planta ya que son complejos fitoquímicos (metabolitos secundarios), que se encuentran en gran variedad y a diferentes concentraciones, por lo que sus beneficios son variados. Este proceso de extracción involucra la obtención del componente deseado del material vegetal con un solvente apropiado,



la evaporación de todo o casi todo el disolvente, y el ajuste de los fluidos residuales, masas o vehículos a los estándares prescritos.(Meléndez et al., 2021)

### 2.2.8 Animales de experimentación (*Ratones Mus Musculus*)

Un animal de laboratorio es criado y reproducido en determinadas condiciones, controlando el entorno para estandarizar a los animales de investigación y previamente serán utilizados para pruebas de experimentación científica que ayuden a reafirmar a las pruebas de laboratorio para la busca de nuevas investigación científicas, ya que, los ratones tienen similitud fisiológica con los humanos, que permite recolectar datos reales que aporten dentro de un laboratorio o como docencia y que le sea útil al investigador. (Boada et al 2011, pp. 32-37)

#### 2.2.8.1 Taxonomía

En la tabla 2-4 se indica la clasificación taxonómica del ratón de experimentación:

**Tabla 2-4:** Clasificación taxonómica del ratón de experimentación:

CLASIFICACIÓN	NOMBRE
Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Suborden	Myomorpha
Familia	Muridae
Género	<i>Mus</i>
Especie	<i>Musculus</i>
Nombre común	Ratón domestico

Fuente: (Ayala, 2021)

Realizado por: Velata A., 2023

#### 2.2.8.2 Ventajas del uso de animales de investigación

Las ventajas del uso del ratón *Mus musculus* para los investigadores:

- Por su pequeño tamaño, son de fácil cuidado y mantenimiento.
- Bajos costos de alimentación.
- Poseen una variedad de características específicas que sirven como modelo.
- Tienen una rápida reproductibilidad.

- Son de vida corta y se puede aprovechar todo su material biológico para realizar varias pruebas de ensayos crónicos en diferentes áreas.

(Fuente: (Velata, 2023)(Ayala 2021, pp. 121–141))

#### 2.2.8.3 *Desventajas del uso de animales de investigación*

Entre las desventajas del uso de estos animales, se pueden mencionar los siguientes:

- Dificultad en la obtención de material biológico.
- Dificultad en usar la cánula correcta para administrar los extractos vegetales.
- Dificultad de los procesos usados en el laboratorio.

(Fuentes: (Velata, 2023)(Sánchez 2015, 1-38))

#### 2.2.8.4 *Bioética del uso de animales de investigación*

En la investigación farmacológicas, la mayoría de veces se asocia automáticamente con la experimentación animal y en particular con los ratones blancos de laboratorio. La experimentación animal es de gran interés entre los temas relacionados con el bienestar animal y los problemas éticos como por la respuesta social que genera. Hay que tener en cuenta la bioética de los animales de experimentación y utilizarlos según (Sánchez 2015, pp. 10-38):

- Siempre que sea posible, usar métodos alternativos.
- Verificar la investigación que se realizara sea de gran importancia para la salud humana y animal, y para el avance del conocimiento biológico.
- Seleccionar animales específicos para la investigación con el número mínimo de animales requeridos para obtener resultados científicamente válidos.
- Tratar a los animales como seres sensibles y considerar obligatoriamente la ética del cuidado y uso adecuado, evitando o minimizando las angustias y el dolor.
- Procedimientos que pueden causar dolor o angustia momentánea o mínima deben ser realizados con sedación, analgesia o anestesia. No realizar procedimientos dolorosos en animales no anestesiados o paralizados con agentes químicos.
- Al final de la experiencia, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, discomfort o invalidez y no puedan ser aliviados, deben ser sacrificados sin dolor.
- El director de la institución es responsable de la evaluación de los investigadores y demás personal, para realizar los trabajos requeridos y no realizar actividades de entrenamiento.

- Cuando se requiere apartarse del principio anterior la decisión debe ser tomada por un Comité Revisor convenientemente constituido. Estas excepciones no deben ser hechas solo para demostración o enseñanza.

### **2.2.9 *Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo***

Para evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos en distintas concentraciones en ratones se usa: Prueba de edema plantar o inducción de carragenina:

Este método consiste en la administración subcutánea o suplantar de una solución de carragenina a un nivel de la aponeurosis plantar del ratón, provocando una reacción inflamatoria mediada por la liberación de diversas células. (Llanga 2022, pp. 10-17)

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Enfoque, diseño y alcance

El presente trabajo posee un enfoque cuantitativo con diseño experimental y tipo explicativo, basado en la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño).

#### 3.2 Diseño experimental

##### 3.2.1 Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo

La población de estudio fue 40 ratones *Mus musculus* albinos hembras de  $30 \pm 3$  g de 70 días, en los cuales fueron sometidos al método de edema plantar para la actividad antiinflamatoria.

##### 3.2.2 Criterios de inclusión

- Los pesos de los ratones no deben diferir de  $30 \pm 3$  g.
- Ratones con edades cercanas a 70 días.
- Ratones hembras

##### 3.2.3 Criterios de exclusión

- Ratones con un peso mayor a 33 g y menores a 27 g
- Ratones con edades mayores a 70 días.
- Ratones machos

##### 3.2.4 Hipótesis

H0: “Ninguno de los tratamientos aplicados a diferentes concentraciones del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth*, presentan efecto antiinflamatorio en los ratones *Mus musculus*.”

$$H0: T1=T2=T3=T4=T5$$

H1: “Al menos uno de los tratamientos aplicados a diferentes concentraciones del extracto del fruto de extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth*, presentan efecto antiinflamatorio en los ratones *Mus musculus*.”

$$H1: T1=T2\neq T3=T4=T5$$

### 3.2.5 Identificación de variables

- **Variable dependiente:** Actividad antiinflamatoria
- **Variable independiente:** Concentración del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño).

## 3.3 Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

### 3.3.1 Materiales, equipos y reactivos

#### 3.3.1.1 Material vegetal

Se utilizaron los frutos de la planta *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño), que se recolectó en la parroquia de Pilahuin-provincia de Tungurahua, en el mes de octubre del 2023.

#### 3.3.1.2 Material biológico

La adquisición de animales experimentales se lo realizará en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO, se solicitaron 40 ratones *Mus musculus* albinas membras de 30 g de 70 días.

#### 3.3.1.3 Materiales de laboratorio y otros

**Tabla 3-1:** Tabla de materiales del laboratorio usados según la técnica

TÉCNICAS	MATERIALES
Obtención y concentración de los extractos	Frascos ámbar
	Balones esmerilados
	Vasos de precipitación 1000ml
Preparación y administración del extracto	Tubos eppendorf
	Tubos falcon

	Jeringuillas de 1ml
	Cánula para ratones
Generación de la inflamación	Vasos de 250ml
	Probeta
	Jeringuilla de 1ml

**Realizado por:** Velata A., 2023

#### 3.3.1.4 Equipos

**Tabla 3-2:** Tabla de equipos usados según la técnica

TÉCNICAS	EQUIPOS
Medir la zona de inflamación	Calibrador (Pie de Rey) automático Rey
Evaporación de los solventes del extracto	Estufa
	Rotavapor
Medir la absorbancia	Espectrómetro UV visible

**Realizado por:** Antony Velata, 2023

#### 3.3.1.5 Reactivos

**Tabla 3-3:** Tabla de reactivos usados según la técnica

TÉCNICAS	REACTIVOS
Preparación del vehículo	Propilenglicol
	Cloruro de sodio 0.9%
	Diclofenaco sódico de 50 mg
Generación de la inflamación	Carragenina
	Agua destilada

**Realizado por:** Antony Velata, 2023

### 3.3.2 Técnicas y métodos

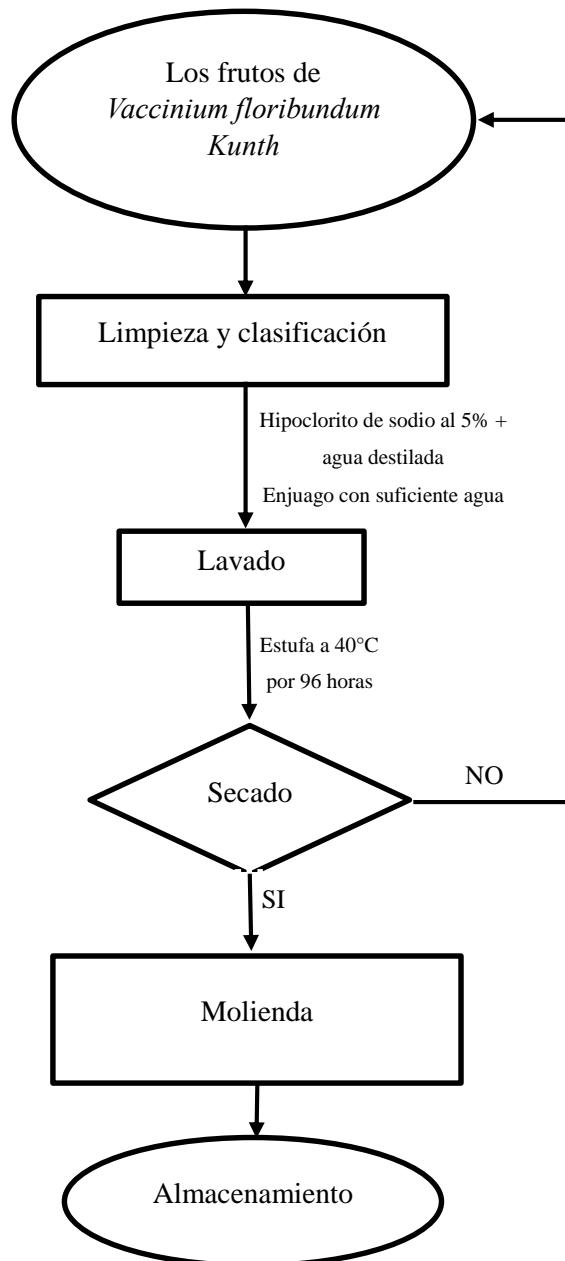
#### 3.3.2.1 Recolección del material vegetal

La recolección del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño) se llevó a cabo en la parroquia de Pilahuin-provincia de Tungurahua, localizada en las coordenadas geográficas: latitud (Y): -78.7277812; longitud (X): -1.299677 y altitud: 3,054 m.s.n.m, mediante un muestreo aleatorio simple, fueron recolectados frutos maduros que tengan formas esféricas y color azul

oscuro, excluyendo frutos inmaduros o en proceso de descomposición, dañados a causa de insectos, animales o factores ambientales (lluvia, sol, viento).

### 3.3.2.2 Preparación del material vegetal

En la siguiente ilustración se evidencia el proceso de preparación del material vegetal para la obtención del extracto etanólico.



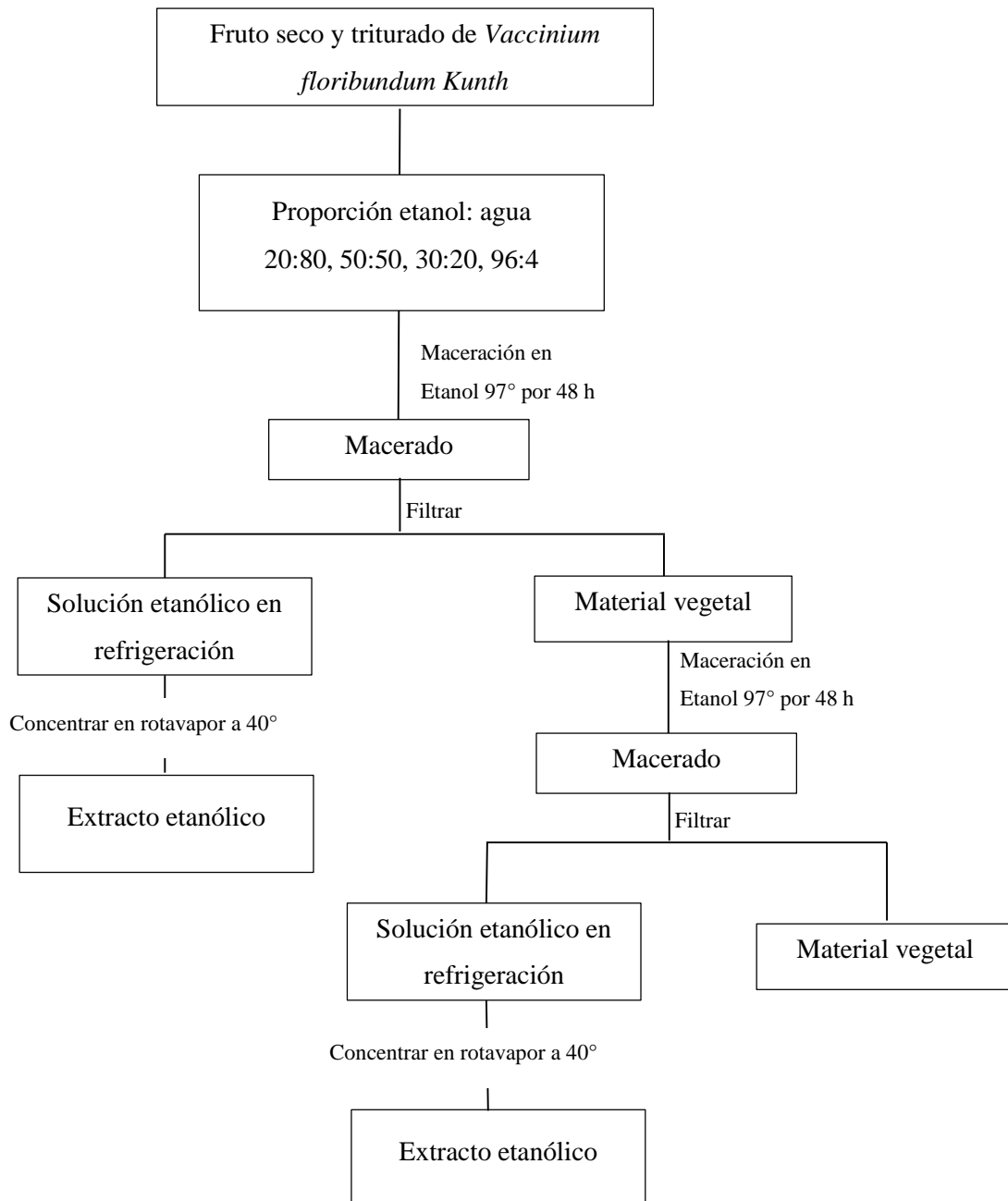
**Ilustración 3-1:** Preparación del material vegetal

**Fuente:** (González Coria & Horianski, 2018)

**Realizado por:** Velata A., 2023

### 3.3.2.3 Obtención del extracto etanólico

Para obtener el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño), se realizará mediante la siguiente ilustración.



**Ilustración 3-2:** Obtención del extracto

**Fuente:** (Andrade & Murillo, 2019)

**Realizado por:** Velata A., 2023



#### 3.3.2.4 Porcentaje de rendimiento

Para determinar el porcentaje de rendimiento del extracto del fruto *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño) obtenido en etanol al 96°, se realiza el cálculo utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{X_1}{X_0} \times 100\% \quad (1)$$

**X1:** Peso del extracto después de la evaporación del solvente

**X2:** Peso seco del vegetal antes de la extracción

(Benítez et al., 2020)

#### 3.3.2.5 Cuantificación de flavonoides totales

La determinación de flavonoides totales de los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño) se basa en una reacción colorimétrica que conlleva la formación de un complejo color rosado entre el  $\text{AlCl}_3$  y los flavonoides presentes, siguiendo el proceso descrito por (Ochoa et al 2023, pp. 30-40) :

Se procede a preparar una solución de los extractos etanólicos y el estándar, la cual deben estar diluidos en 180  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Se toma una alícuota de 30  $\mu\text{L}$  de la solución preparada, y se distribuirá en una placa de 96 pocillos y se agregó 10  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{NaNO}_2$  al 5%. Después de 6 min, se añadió 20  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{AlCl}_3$  al 10% y se dejará reposar durante 6 min, luego de dejarle en reposo, a la mezcla se le adiciona 60  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{NaOH}$  al 4% y se dejará reposar durante otros 15 min. La absorbancia de la mezcla se determina a 510 nm frente a un blanco de agua preparado utilizando un lector de microplacas. Se empleó quercetina como estándar a diferentes concentraciones entre 10-100 ppm equivalentes a quercetina, obteniendo una curva de calibración con la ecuación que permitirá determinar la concentración de flavonoides presentes en los extractos etanólico y los valores se expresarán como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de muestra (mg EQ/g de muestra).

#### 3.3.2.6 Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño) se la realizó por un método espectrofotométrico, que se fundamenta en una reacción colorimétrica de óxido reducción, donde la sustancia oxidante fue el reactivo de Folin-Ciocalteu y el ácido gálico se utilizó como estándar de compuesto fenólico, obteniendo una curva de calibración con la

ecuación que permitirá determinar el contenido de fenoles en los extractos etanólicos. La cuantificación de la muestra y estándar, se aplicará el siguiente proceso establecido por (Vinueza et al 2017, pp. 29-45):

Para preparar una solución de los extractos etanólicos y el estándar de ácido gálico (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 ppm), se diluyo en 95  $\mu\text{L}$  de agua destilada en una placa de 96 pocillos. A las soluciones preparadas, se añade 25  $\mu\text{L}$  de solución de reactivo FolinCiocalteu. Después de 6 minutos, se adiciona 75  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7% y se mezcla suavemente. La mezcla de reacción se mantiene en la oscuridad durante 2 h, y se midió su absorbancia a 765 nm frente a una solución en blanco, que se preparará según el procedimiento descrito anteriormente, excepto que la solución de extracto se sustituirá por 5  $\mu\text{L}$  de agua, utilizando el lector de microplacas. El TPC se expresará como miligramos de equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g).

### 3.3.2.7 *Determinar la actividad antioxidante*

#### Método DPPH

Para la determinación de la actividad de barrido de radicales de los extractos y fracciones contra el radical libre DPPH se basó el método de Brand-Williams, siguiendo el proceso establecido por (Guamán 2022, pp. 25-34):

En una placa de 96 pocillos se coloca 10  $\mu\text{L}$  de las soluciones diluidas de los extractos etanólicos y solución de Trolox y se adiciona 190  $\mu\text{L}$  de solución de DPPH (la concentración final será de 0,1 mM en metanol). La mezcla se agita suavemente y se deja reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos. A continuación, se medirá la absorbancia a 517 nm frente al metanol utilizando un lector de microplacas. La actividad de barrido de radicales DPPH de los extractos se calculará a partir de la curva estándar de Trolox y se expresará como micromoles de equivalentes de Trolox por gramo de muestra ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) o se obtiene el porcentaje de captación de radicales DPPH utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Ab}_{\text{DPPH}} - \text{Ab}_{\text{Muestra}}}{\text{Ab}_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

$\text{Ab}_{\text{DPPH}}$  es la absorción es la solución control de DPPH;

$\text{Ab}_{\text{Muestra}}$  es la absorción de la muestra

### 3.3.2.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante el método de edema plantar inducido por carragenina, se realiza el siguiente procedimiento:

#### Fase 1. Ambientación de los animales de experimentación

Para la ambientación se distribuirán a 40 ratones en 6 cajas. Cada caja tendrá 5 animales experimentales y para llevar un registro diario durante 15 días hasta conseguir un peso constante de  $30 \pm 3$  gramo, colocamos una marca distintiva en la cola en cada ratón *Mus musculus* utilizando marcadores de diferentes colores. Esto permitirá la medición de la reducción de la inflamación por el método de edema plantar utilizando carragenina, el cual, se estableció 3 bloques experimentales correspondientes a 30, 100 y 300mg/Kg de extracto etanólico y los otros bloques para control positivo (diclofenaco sódico 100 mg/kg) y negativo (NaCl 0,9%) como se indica en la tabla 3-5.

#### Fase 2. Preparación de reactivos para evaluar la actividad antiinflamatoria

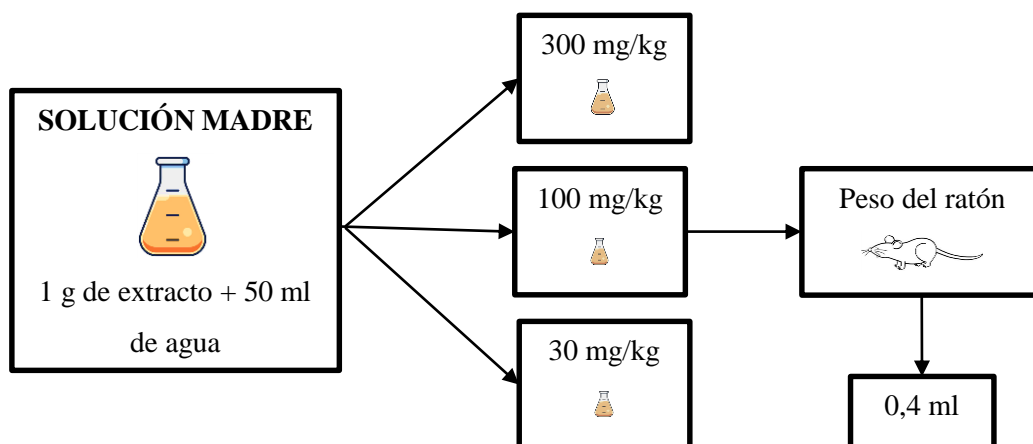
En la tabla 5 indica la preparación de reactivos para la evaluar la actividad antiinflamatoria utilizando el método edema plantar.

**Tabla 3-4.** Preparación de reactivos para el método edema plantar

<b>PREPARACIONES DE REACTIVOS</b>	<b>PROCESO</b>
Preparación de carragenina	Se pesó 1 g de carragenina y se disolvió en 100 ml de cloruro de sodio para obtener una solución de carragenina al 1% que será utilizada para producir inflamación en los modelos animales.
Preparación de control positivo	Se pesó 100 mg de diclofenaco sódico de 50 mg y aforó en un balón de 100ml con propilenglicol.
Preparación de las concentraciones	Se pesó 1 g de extracto del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth y se diluyó en 50 ml de agua y se realiza disoluciones para obtener las tres distintas concentraciones de 30, 100 y 300 mg/Kg de peso corporal.

Fuente: (Llanga, 2022)

Realizado por: Velata A., 2024



**Ilustración 3-3:** Proceso de preparación de las dosificaciones de los extractos etanólicos

Realizado por: Velata A., 2024

### Fase 3. Diseño experimental

#### Modelo de edema plantar inducido por carragenina

Después de haber pasado la etapa de ambientalización a los biomodelos animales y de haber preparado los reactivos, se procede a la evaluación de la actividad antiinflamatoria por el método edema plantar, siguiendo el proceso indicado por (Andrade, Murillo 2019, pp. 20-30) :

- Luego de 12 horas de ayuno a cada grupo experimental según corresponda, se administra por vía oral las distintas concentraciones del extracto etanólico y las soluciones de control positivo y negativo. El volumen de dosificación se realizó de acuerdo a la concentración y peso del ratón.
- Después de una hora se inyectará 40 µl de carragenina al 1% en la pata trasera derecha.
- Una vez inyectado el agente inflamatorio se mide el área de zona inflamada en la pata del ratón (tiempo cero). El área de la zona inflamada se obtuvo por medio del programa image J.
- En cada hora se medirá el área de la zona inflamada hasta 6 horas.

Se calculo el porcentaje de inhibición de la inflamación mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(Ct - C0)_{\text{control}} - (Ct - C0)_{\text{tratado}}}{(Ct - C0)_{\text{control}}} \times 100 \quad (3)$$

Dónde:

**(Ct-C0) control;** es la diferencia de medidas de la pata a las 6 horas en el ratón control y

**(Ct-C0) tratado;** es la diferencia de las medidas de la pata a las 6 horas en cualquier ratón tratado

con el extracto de la planta.

**Tabla 3-5:** Diseño de la evaluación de la “actividad antiinflamatoria” in vivo por edema plantar.

CÓDIGO	GRUPO	ANIMALES	TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN
G0	Grupo Blanco	5 ratones	.....	.....
G1	Grupo negativo	5 ratones	NaCl	(0,4mL)
G2	Grupo positivo	5 ratones	Diclofenaco sódico	10mg/Kg
G3	Grupo experimental	5 ratones	Extracto de	300mg/Kg (0,4mL)
G4	Grupo experimental	5 ratones	<i>Vaccinium floribundum</i>	100mg/Kg (0,4mL)
G5	Grupo experimental	5 ratones	<i>Kunth</i>	30mg/Kg (0,4mL)

Realizado por: Velata A., 2024

### 3.3.2.9 Análisis de datos

Los resultados cuantitativos se evaluaron en el programa SPSS, que mediante del test ANOVA de un factor, nos facilitó identificar si existe diferencia significativa entre cada grupo de tratamientos investigados, con una probabilidad  $p < 0,05$ . Realizando el planteamiento de las hipótesis, siendo las siguientes:

Ho: no existe diferencia significativa en cada uno de los tratamientos administrados a los animales de experimentación.  $p \geq 0,05$

H1: existe diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos administrados  $p < 0,05$

Si se acepta la hipótesis nula se concluye que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, pero si se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa se precisa que tiene diferencia significativa entre los tratamientos, se procede a realizar el test de Tukey-B y Dunnett donde se determina en cuál de los grupos de tratamiento existe la diferencia significativa con ayuda del porcentaje de inhibición.

## CAPÍTULO VI

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

#### 4.1 Porcentaje de rendimiento de los extractos

**Tabla 4-1:** Rendimiento del extracto

Extracto etanólico	Proporciones (etanol: agua)	% DE RENDIMIENTO
	20:80	37,766 ± 0,662
Fruto de <i>Vaccinium</i>	50:50	38,415 ± 0,989
<i>Floribundum Kunth</i>	80:20	51,680 ± 0,556
	96:4	50,949 ± 0,360

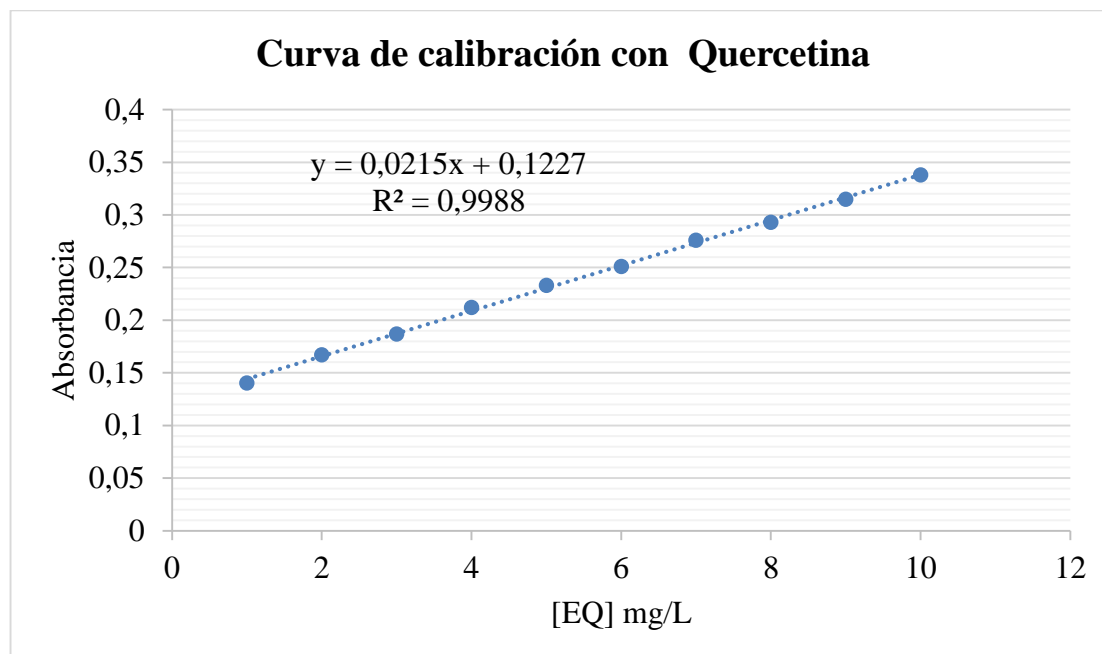
Realizado por: Velata A., 2024

Mediante la ecuación 1, se obtuvo el porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth* (mortiño) y se lo presenta en la tabla 4-1, donde el mayor porcentaje de rendimiento es el extracto etanólico a proporciones 80:20 (etanol:agua), con 51,680 % ± 0,556.

No existe evidencia del rendimiento del extracto de *Vaccinium Floribundum Kunth* (mortiño), pero si existe estudios de la familia de *Vaccinium*, en un estudio realizado por (González Coria & Horianski, 2018), se obtiene un rendimiento del extracto etanólico de *V. corymbosum* del 41,75 % mediante una extracción a proporción 1:3 (mg/ml) y maceración de 72 días. A diferencia de los resultados obtenidos en la tabla 4-1, se obtuvo un porcentaje de rendimiento ligeramente superior al reporte del autor mencionado.

Existe una variación significativa en los porcentajes de rendimiento de los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth* (mortiño), de acuerdo con (Benítez et al 2020, pp. 31-40) existen factores que afectan en el rendimiento del extracto, en este caso no depende de la polaridad de los disolventes porque solo se utilizó el etanol al 96° como solvente, sino tiene que ver con otros factores que pueden influir, tales como el tiempo de maceración, fundamentalmente si se realizan por largos periodos de tiempo, el método de extracción, grado de molienda de la muestra y sobre todo de la agitación ya que no existía un tiempo específico para agitarlos a cada extracto.

## 4.2 Cuantificación de flavonoides totales



**Ilustración 4-1:** Curva de calibración del estándar de quercetina

Realizado por: Velata A., 2024

En la ilustración 4-1 se obtiene la curva de calibración del estándar de quercetina con la ecuación de la recta que permitió determinar la concentración de flavonoides de cada extracto etanólico del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth* (mortiño), que se expresan en mg equivalentes de quercetina por gramos de extracto (mg EQ/g extracto), como lo indica en la siguiente tabla.

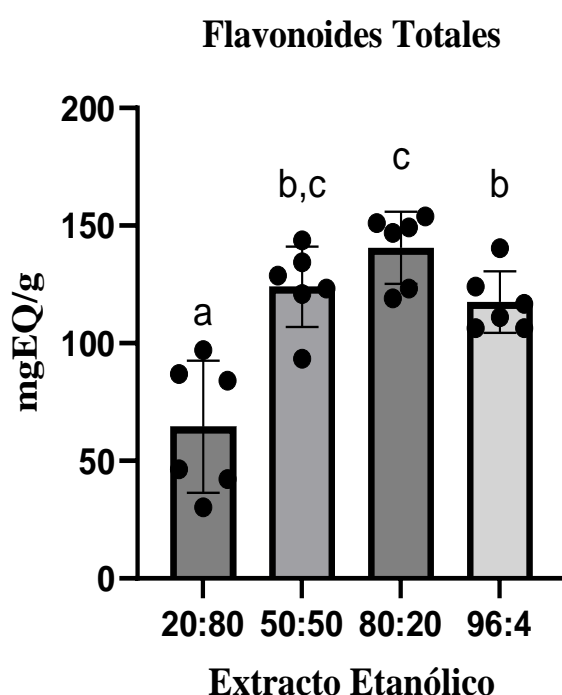
**Tabla 4-2:** Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth*

SUSTANCIA	PROPORCIONES (etanol-agua)	mg equivalentes de quercetina/g extracto
Extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i>	20:80	64,527±7,66
	50:50	124,062±16,51
	80:20	140,574±17,00
	96:4	111,581±10,46

Realizado por: Velata A., 2024

En la tabla 4-2 y en la ilustración 4-2 se indica el contenido de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth*, encontrando que el extracto a proporción 80:20 (etanol: agua) tienen un alto contenido de flavonoides que es de 140,574±17,00

mg EQ/g extracto, siendo superior al resto de extractos. Estos resultados son significativamente menores a los mencionados por (Guerrero 2019, pp. 34-78), que obtiene 4298,6 mg de catequina por 100mg para la misma especie y en la provincia de Tungurahua, diferencia posible al estudio puede deberse a que se realizó con diferente estándar, procedimiento diferente y fecha de recolección diferente, lo que favorece a la liberación de los metabolitos, evidenciando que el mortiño tiene gran contenido de flavonoides. Por otra parte, el estudio realizado en Perú por (Pastor, 2019) reporta el contenido de flavonoides es de 108,5 mg EQ/g extracto para la misma especie, en comparación con los resultados indicados en la tabla 4-4 son considerablemente mayores a los obtenidos por el autor citado.



**Ilustración 4-2:** Contenido de flavonoides totales

Realizado por: Velata A., 2024

Los flavonoides son un grupo mayoritario de compuestos fenólicos. Los flavonoides totales presenten en el fruto del mortiño arrojaron datos superiores a otra investigación. En el estudio de (Guerra 2017, 34-80) para *Vaccinium Floribundum Kunth* Ecuador, establece un valor 25, 581 a 38,203 mg EQ/g extracto, cuya investigación menciona que el contenido de flavonoides depende de la altitud ya que las muestras fueron tomadas de distintas altitudes, demostrando que el extracto a mayor altitud, la presencia de flavonoides es mayor.



La presencia de compuestos fenólicos expresados en flavonoides, fenoles totales y flavonoles en el extracto etanólico se puede relacionar con la actividad antiinflamatoria, antioxidante y toxicidad moderada, como menciona (Enciso, Arroyo 2011, pp. 50-86) los flavonoides tienen una estructura química con grupos hidroxilos fenólicos y quelación del hierro y otros metales de transición cooperando con la actividad antiinflamatoria, existe una posible explicación ya que se cree que inhiben la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, causantes de la actividad inflamatoria.

**Tabla 4-3:** Prueba de comparación múltiples de Tukey de flavonoides totales

<b>Comparaciones múltiples</b>					
	(I) MF	(J) MF	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
HSD Tukey	20:80	50:50	-59,53488*	10,79632	<b>,000</b>
		80:20	-85,77519*	12,07065	<b>,000</b>
		96:4	-53,02326*	10,79632	<b>,001</b>
	50:50	20:80	59,53488*	10,79632	<b>,000</b>
		80:20	-26,24031	12,07065	,168
		96:4	6,51163	10,79632	,930
	80:20	20:80	85,77519*	12,07065	<b>,000</b>
		50:50	26,24031	12,07065	,168
		96:4	32,75194	12,07065	,062
	96:4	20:80	53,02326*	10,79632	<b>,001</b>
		50:50	-6,51163	10,79632	,930
		80:20	-32,75194	12,07065	,062

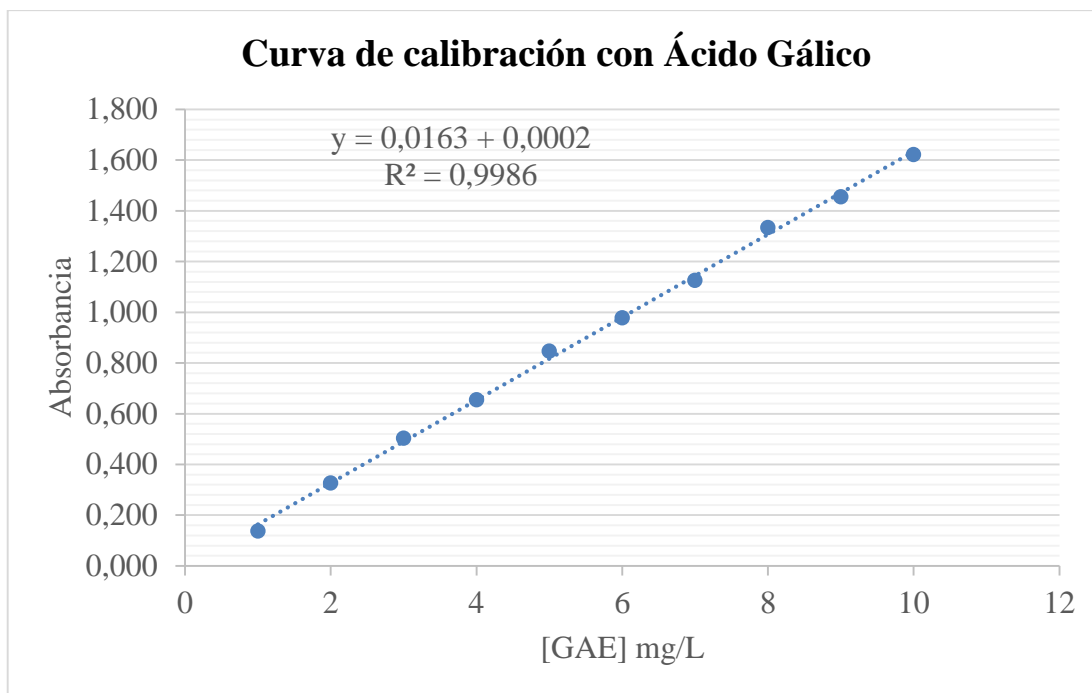
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Realizado por: Velata A., 2024

En la tabla 4-3 se identificó la diferencia de los distintos extractos etanólicos en la cuantificación de flavonoides, observando que el extracto de 80:20 (etanol-agua) es similar al 50:50 y 96:4, mientras que el extracto al 20:80 es diferente al resto.

### 4.3 Cuantificación de fenoles totales

En la ilustración 4-3, nos indica la ecuación de la recta para calcular el contenido de fenoles del extracto del fruto.



**Ilustración 4-3:** Curva de calibración del estándar de ácido gálico

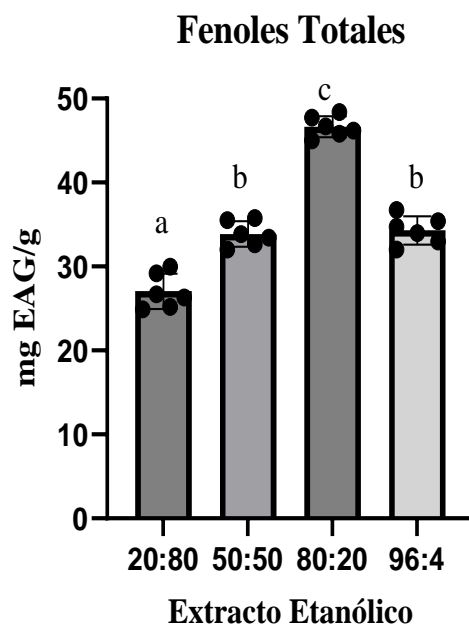
Realizado por: Velata A., 2024

Una vez aplicado la ecuación del estándar se obtiene la concentración de los extractos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth*, se expresará en mg equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto (mg EAG/g extracto), como se indica en la siguiente tabla.

**Tabla 4-4:** Resultados de la cuantificación de fenoles totales de los extractos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth*.

SUSTANCIA	PROPORCIONES	mg equivalentes de ácido gálico/g
	(etanol-agua)	extracto
Extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i>	20:80	27,043±17,53
	50:50	33,863±18,87
	80:20	46,634±8,71
	96:4	34,303±9,84

Realizado por: Velata A., 2024



**Ilustración 4-4:** Contenido de fenoles totales

Realizado por: Velata A., 2024

La cuantificación de fenoles totales en la tabla 4-4 y en la ilustración 4-4, nos indica que el extracto a proporción 80:20 (etano: agua) presenta 46,634 mg EAG/g extracto, siendo el extracto con mayor contenido de fenoles. Una de las condiciones del alto contenido de fenoles totales se debe a que la recolección se realizó en el mes de octubre, fechas de cosecha, donde el fruto ya este maduro, según lo mencionado concuerda con la investigación realizada por (Coba et al 2012, pp. 60-76), donde la recolección de la especie *Vaccinium meridionale* se realizó en diferentes épocas, demostrando que el alto contenido de fenoles totales, esto se debe a que la planta sufre un estrés oxidativo, por lo que dependerá de épocas de cosecha donde se obtenga un fruto está maduro, tardando en madurar alrededor de 186 días.

Según lo reportado en la tabla 4-4 presento una similitud de contenido de fenoles totales tales a lo mencionado por (Guerrero 2019, pp. 76-80), ya que realizo un estudio de la misma especie, pero en varias localidades de la sierra ecuatoriana como Chimborazo, Tungurahua (Pucara), Imbabura y Bolívar, donde se obtuvo 51,451 mg EAG/g en la provincia de Tungurahua, zona de importancia ya que se realizó la recolección. La variación de contenido fenoles totales en los diferentes lugares tiene que ver con las condiciones climáticas y características geográficas. Se demostró que a distintas proporciones presentan fenoles totales. Por otra parte, estudio realizado por (Espinoza et al., 2023) en Perú se realizó extractos hidroalcohólicos a 50%, 70% y 96% cuyos resultados obtenidos fueron  $38,131 \pm 0,242$ ;  $34,780 \pm 0,145$ ;  $27,510 \pm 0,046$  mg EAG/g respectivamente,

evidenciando que el contenido de fenoles totales mostrados en la tabla 4-4 es superior a diferencia con el autor.

Por otra parte, (Bedoya et al 2022, 56-65) realiza un estudio del contenido de fenoles totales en el fruto maduros en el género *Vaccinium*, especies como *V. corymbosum*, *V. arctostaphylos* y *V. myrtillus* con similar metodología utilizada, pero en diferentes países, reporta que presentan un contenido de fenoles totales en un rango promedio de 10,46 a 69,46 mg EAG/g extracto, pero se realiza en diferentes solventes. El de interés es el extracto etanol-agua en proporción 80:20, realizado en *V. corymbosum* tienen fenoles totales de 26,406 a 42,484 mg EAG/g extracto, mismos que son significativamente inferiores a los obtenidos en la investigación. Evidenciando que el extracto de 80% tienen similitud con las diferentes especies de *Vaccinium* con alto contenido de fenoles, permitiendo su actividad antioxidante y antiinflamatoria ya que los fenoles totales tienen un grupo que pueden reemplazar el grupo H por uno o más OH en la estructura.

**Tabla 4-5:** Prueba de comparación múltiples de Tukey de fenoles totales

<b>Comparaciones multiples</b>					
	(I) MF	(J) MF	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
HSD Tukey	20:80	50:50	-68,20067*	9,61558	<b>,000</b>
		80:20	-195,91000*	9,61558	<b>,000</b>
		96:4	-72,59750*	9,61558	<b>,000</b>
	50:50	20:80	68,20067*	9,61558	<b>,000</b>
		80:20	-127,70933*	9,61558	<b>,000</b>
		96:4	-4,39683	9,61558	,967
	80:20	20:80	195,91000*	9,61558	<b>,000</b>
		50:50	127,70933*	9,61558	<b>,000</b>
		96:4	123,31250*	9,61558	<b>,000</b>
	96:4	20:80	72,59750*	9,61558	<b>,000</b>
		50:50	4,39683	9,61558	,967
		80:20	-123,31250*	9,61558	<b>,000</b>

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

**Realizado por:** Velata A., 2024

En la tabla 4-5 indican una diferencia significativa entre los distintos extractos, observando que el extracto de 80:20 (etanol-agua) tiene mayor contenido de fenoles totales y es diferente al resto de extractos. Según (Yáñez 2022, pp. 1-38), la variabilidad en el contenido de fenoles entre distintos extractos etanólicos puede ser el resultado de una combinación de factores relacionados con la

materia prima, el proceso de extracción, las condiciones de almacenamiento y tiempos de agitación.

#### 4.4 Determinación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante presentes en los extractos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth* se determinó mediante el método DPPH. En la siguiente tabla se presenta la actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del radical libre DPPH (2,2-difenil-1picrilhidrazilo), además se expresa en  $\mu\text{mol}$  Equivalente Trolox/L. evidenciando la actividad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto.

**Tabla 4-6:** Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth*

SUSTANCIA	PROPORCIONES (etanol-agua)	% Inhibición	$\mu\text{mol}$ Equivalente Trolox/L
Extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium Floribundum Kunth</i>	20:80	72,867 $\pm$ 1,594	52,054 $\pm$ 0,064
	50:50	64,248 $\pm$ 2,745	51,648 $\pm$ 0,111
	80:20	53,296 $\pm$ 4,184	51,264 $\pm$ 0,169
	96:4	50,724 $\pm$ 4,374	51,161 $\pm$ 0,177

Realizado por: Velata A., 2024

La capacidad antioxidante mostrado en la tabla 4-6 se evidencia que el extracto al 20:80 tiene alta capacidad antioxidante que es de 72, 867 %  $\pm$ 1,594 y 52,054 $\pm$ 0,064  $\mu\text{mol}$  Equivalente Trolox/L, a diferencia de los otros extractos. Estos resultados son considerablemente mayores a lo reportado por (Guamán 2022, pp. 18-76) que obtuvo 27, 93% para la misma especie, extracto obtenido mediante el método soxhlet siendo un factor asociado al bajo contenido de porcentaje de inhibición. Por otro lado, (Torrenegra et al 2016, pp. 56-68) en su análisis de actividad antioxidante de la pulpa de la misma especie, reporta una inhibición de 53,33%, similares al extracto en proporción 80:20 de la experimentación.

Finalmente, el estudio realizado en varias localidades de Bolivia por (Villanueva et al 2023, 60-76), reportaron la actividad antioxidante que varía entre 49,95 y 75,40  $\mu\text{mol}$  equivalentes a Trolox 100g, en comparación con la tabla 4-6 está dentro entre los rangos del autor citado, recalco que uno de los factores que influye en la actividad antioxidante es la ubicación geográfica, cuya diferencia en la capacidad antioxidante a va diferir por su estructura química y propiedades

moleculares de varios compuestos polifenólicos. Otra característica es su capacidad de donar electrones o un átomo de hidrógeno destacando los grupos 3-hidroxi de flavonoles.

**Tabla 4-7:** Prueba de comparación múltiples de Tukey de la capacidad antioxidante

<b>Comparaciones múltiples</b>					
	(I) MCO	(J) MCO	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
HSD Tukey	20:80	50:50	9,26231*	2,14773	<b>,001</b>
		80:20	21,03240*	2,14773	<b>,000</b>
		96:4	23,79645*	2,14773	<b>,000</b>
	50:50	20:80	-9,26231*	2,14773	<b>,001</b>
		80:20	11,77009*	2,14773	<b>,000</b>
		96:4	14,53414*	2,14773	<b>,000</b>
	80:20	20:80	-21,03240*	2,14773	<b>,000</b>
		50:50	-11,77009*	2,14773	<b>,000</b>
		96:4	2,76405	2,14773	,578
	96:4	20:80	-23,79645*	2,14773	<b>,000</b>
		50:50	-14,53414*	2,14773	<b>,000</b>
		80:20	-2,76405	2,14773	,578

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

Realizado por: Velata A., 2024

Se observa en la tabla 4-7 la diferencia significativa entre extractos etanólicos en la evaluación de la capacidad antioxidante, observando que el extracto al(etanol-agua) 20:80 y 50:50 es diferente a cada extracto, mientras que el extracto al 80:20 y 96:4 son similares entre sí. Se evidencia que los extractos tienen una gran capacidad antioxidante, en este caso para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se utilizó el extracto al 80:20 debido a su alto contenido de flavonoides y fenoles totales, ya que la capacidad antioxidante cumple otras funciones tales como: protección celular hasta la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, cicatrización y el apoyo a la función inmunológica y cerebral. (Morales et al 2023, pp. 929–946)

#### 4.5 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

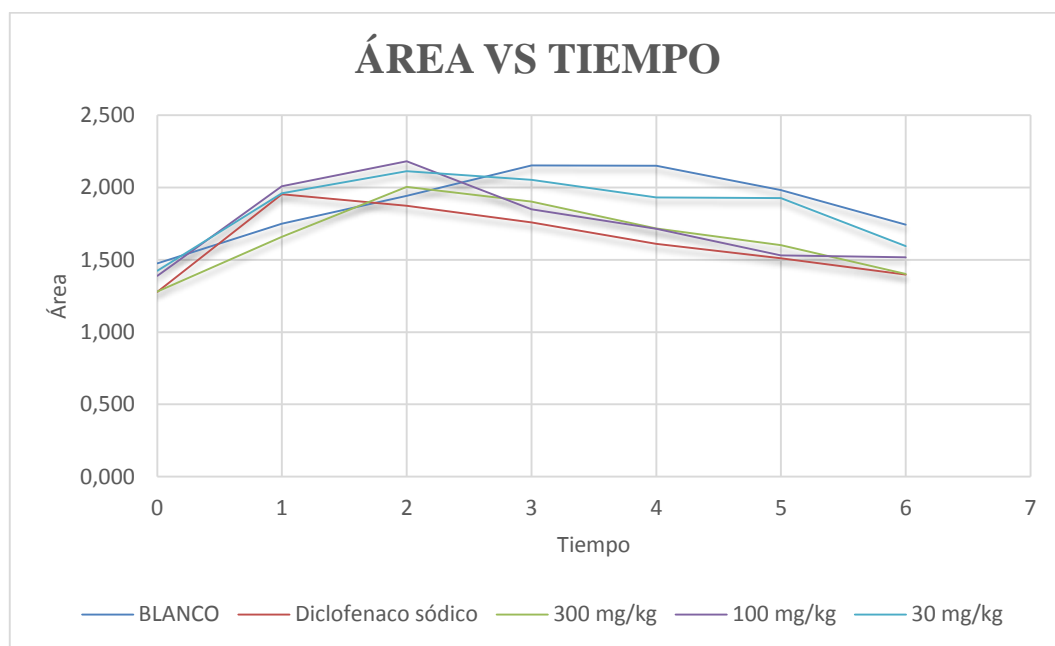
##### 4.5.1 Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria por el método edema plantar

En la tabla 4-8 se evidencia las mediciones de las áreas de la zona de estudio de edema plantar, por medio del programa image j se obtiene los valores cuantitativos.

**Tabla 4-8:** Resultados de las áreas de inflamación de los diferentes tratamientos y tiempos.

ÁREAS DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS Y TIEMPOS									
GRUPOS		T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Ct-C0
HORAS									
Control (carragenina)		1,474	1,750	1,942	2,152	2,150	1,982	1,742	<b>0,268</b>
Diclofenaco sódico	100 mg/kg	1,278	1,952	1,874	1,758	1,610	1,510	1,398	<b>0,120</b>
Extracto de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth	300 mg/kg	1,280	1,658	2,004	1,902	1,716	1,602	1,402	<b>0,122</b>
	100 mg/kg	1,388	2,008	2,180	1,848	1,714	1,530	1,518	<b>0,130</b>
	30 mg/kg	1,423	1,960	2,113	2,053	1,930	1,927	1,593	<b>0,170</b>

Realizado por: Velata A., 2024



**Ilustración 4-5:** Áreas en las regiones inflamadas a diferentes tiempos y a los diferentes tratamientos

Realizado por: Velata A., 2024

En la tabla 4-8, nos indica las áreas de la zona de inflamación en las patas de los animales de experimentación desde el tiempo 0 al tiempo 6, para evidenciar la reducción de inflamación mediante las áreas, se calcula una diferenciación entre el tiempo 6 (Ct) y el tiempo 0 (C0)

permitiendo observar que el grupo control tiene una reducción de 0,268 cm<sup>2</sup>, el grupo positivo (Diclofenaco sódico) reduce 0,120 cm<sup>2</sup>, mientras que los extractos los extractos a dosis de 300 mg/kg y 100 mg/kg reducen a 0,122 cm<sup>2</sup> y 0,130 cm<sup>2</sup>, teniendo relación con el grupo con control positivo y el grupo administrado el extracto a 30 mg/ kg reduce 0,170 cm<sup>2</sup>, evidenciando que tiene un baja actividad inflamaría teniendo relación con el control negativo.

Para una mejor visualización en la ilustración 4-5 se observa cómo actúa la inflamación frente al tiempo y a los tratamientos, observando que la inflamación va subiendo aproximadamente en los Tiempos 2 y 3 y reduciendo hasta el tiempo 6, el tratamiento con diclofenaco sódico se observa que reduce de una manera uniforme asemejándose al tratamiento de 300 mg/kg y 100 mg/kg, mientras que el tratamiento de 30 mg/kg tarda en reducir la inflamación al igual que el grupo control.

Por otra parte, un estudio realizado en familia de *Vaccinium*, por (Román, Reyes 2023, pp. 65-80), indicando que las concentraciones (50, 100 y 200 mg/kg) de *Vaccinium corymbosum* presentaron volúmenes medios de  $1.9917 \pm 0.03$ ;  $1.8717 \pm 0.02$  y  $1.5883 \pm 0.03$  ml frente al grupo control con un volumen de inflamación de  $2.0533 \pm 0.05$  ml, evidenciando que los extractos a mayor concentración presentan mejor actividad antiinflamatoria, en comparación con los resultados reportados de la tabla 4-5 tienen similitud de reducción de inflamación con el autor citado.

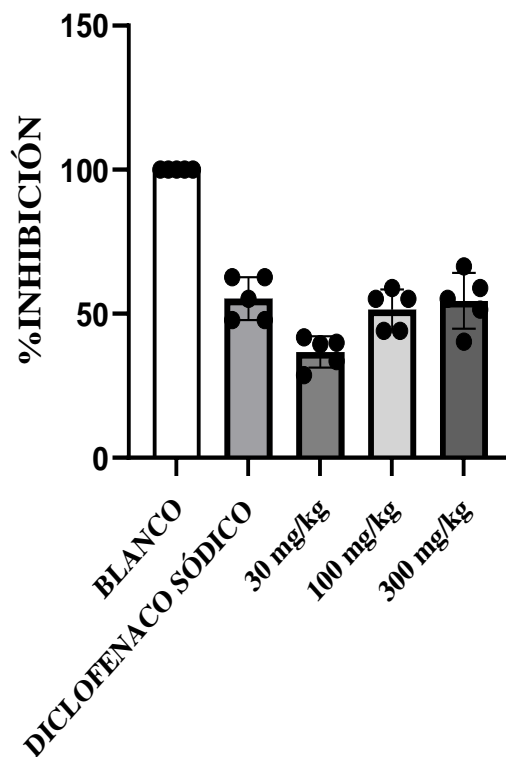
Para tener mayor evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto del fruto a diferentes concentraciones, se aplicó la fórmula de porcentaje de inhibición obteniendo resultados en la tabla 4-9 y en el grafico 4-6

**Tabla 4-9:** Resultados de los porcentajes de inhibición inflamatoria

<b>PORCENTAJES DE INHIBICIÓN</b>					
	<b>Control (carragenina)</b>	<b>Diclofenaco Sódico</b>	<b>300 mg/kg</b>	<b>100 mg/kg</b>	<b>30 mg/kg</b>
<b>% INHIBICION</b>	100	55,22	54,48	51,49	36,57
<b>SD</b>	-	7,46	9,66	6,98	5,44

Realizado por: Velata A., 2024





**Ilustración 4-6:** Porcentajes de inhibición a los diferentes tiempos y tratamientos

Realizado por: Velata A., 2024

En la tabla 4-9 se evidencia el porcentaje de inhibición, presentando que el diclofenaco sódico en comparación a dosis de 300 mg/kg, tienen mayor porcentaje de inhibición que es de 54,48 % y en comparación con los extractos etanólicos se destacó que el extracto a dosis de 100 mg/kg tiene una similitud de efecto que el diclofenaco sódico. Por otra parte, se evidencia que el extracto de fruto de *Vaccinium Floribundum Kunth* (mortiño) tiene actividad antiinflamatoria a diferentes dosis, esto es respaldado por (J. García 2017, 38-60), estudio realizado en la misma especie pero a nivel celular, se investigó en macrófagos de ratones RAW264.7 (macrófago de ratón, virus de la leucemia murina de Abelson transformado), demostrando que los extractos etanólicos a pH5 presenta una mayor viabilidad celular superior al 80% para las concentraciones de 1-1000 ug/ml, dicho acción esta relacionados con la disminución de los genes iNOS, COX-2, genes que actúan en la inflamación. Se concuerda que el extracto etanólico del fruto tiene actividad desde una dosis más pequeña.

Por otra parte, (Torri et al 2010, pp. 38-76), determinaron la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de *V. corymbosum* en edema inducido por carragenina en la pata de la rata, administró por vía oral en dosis de 100, 200 o 300 mg/kg para todos los ensayos, evidenciando

una reducción del edema de la pata de rata en un 9,8, 28,5 y 65,9%, respectivamente. En comparación con la investigación tienen relación de actividad antiinflamatoria que el autor mencionado. En la ilustración 4-6 se observa una diferencia significativa entre las diferentes dosificaciones, lo cual puede atribuirse a varios factores, uno de ellos es la concentración de compuestos activos, ya que la concentración de estos compuestos puede variar según la dosis del extracto, lo que afecta su eficacia. Otro factor puede deberse a su biodisponibilidad, esto puede deberse a que a una dosis más alta puede resultar en una mayor absorción y distribución de los compuestos activos en el cuerpo, lo que puede aumentar su eficacia antiinflamatoria. Pero es importante encontrar un equilibrio entre la eficacia y la seguridad al determinar la dosis óptima para no evidenciar los efectos adversos a altas dosis. (Montes 2019, pp. 17-68)

#### 4.5.2 *Análisis estadístico*

Con los porcentajes de inhibición de los tratamientos se realizó el análisis estadístico con el test de ANOVA para determinar si  $p > 0,05$  se acepta la hipótesis nula determinando que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, pero si  $p < 0,05$  el siguiente paso es el test de Tukey y Dunnett para evidenciar diferencias significativas entre grupos y el control.

**Tabla 4-10:** Análisis estadístico con el Test de ANOVA para los tratamientos

**TEST DE ANOVA**

<b>% Inhibición</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Entre grupos</b>	10917,316	4	2729,329	60,028	0,000
<b>Dentro de grupos</b>	909,347	20	45,467		
<b>Total</b>	11826,663	24			

Realizado por: Velata A., 2024

En el análisis de la tabla de ANOVA el valor-p es menor que 0,05, rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa, indicando que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, con un nivel del 95 % de confianza.

Se procede a realizar la tabla de Tukey y Dunnett con un nivel de confianza al 95% para determinar cuál de los distintos tratamientos existe una diferencia significativa ya sea entre los tratamientos o el control.

**Tabla 4-12:** Análisis estadístico con el Test de Tukey y Dunnett

Comparaciones múltiples							
	(I) TRATAMIENTOS	(J) TRATAMIENTOS	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Valor p	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
<b>HSD Tukey</b>	Diclofenaco sódico	Control (carragenina)	55,22400*	4,26461	,000	42,4627	67,9853
		300 mg/kg	,74600	4,26461	1,000	-12,015	13,5073
		100 mg/kg	3,73200	4,26461	,903	-9,0293	16,4933
		30 mg/kg	18,52600*	4,26461	,003	5,7647	31,2873
	Control (carragenina)	Diclofenaco sódico	-55,22400*	4,26461	,000	-67,985	-42,4627
		300 mg/kg	-54,47800*	4,26461	,000	-67,239	-41,7167
		100 mg/kg	-51,49200*	4,26461	,000	-64,253	-38,7307
		30 mg/kg	-36,69800*	4,26461	,000	-49,459	-23,9367
	300 mg/kg	Diclofenaco sódico	-,74600	4,26461	1,000	-13,507	12,0153
		Control(carragenina)	54,47800*	4,26461	,000	41,7167	67,2393
		100 mg/kg	2,98600	4,26461	,954	-9,7753	15,7473
		30 mg/kg	17,78000*	4,26461	,004	5,0187	30,5413
	100 mg/kg	Diclofenaco sódico	-3,73200	4,26461	,903	-16,493	9,0293
		Control(carragenina)	51,49200*	4,26461	,000	38,7307	64,2533
		300 mg/kg	-2,98600	4,26461	,954	-15,747	9,7753
		30 mg/kg	14,79400*	4,26461	,018	2,0327	27,5553
	30 mg/kg	Diclofenaco sódico	-18,52600*	4,26461	,003	-31,287	-5,7647
		Control(carragenina)	36,69800*	4,26461	,000	23,9367	49,4593
		300 mg/kg	-17,78000*	4,26461	,004	-30,541	-5,0187
		100 mg/kg	-14,79400*	4,26461	,018	-27,555	-2,0327
<b>T de Dunnett (bilateral)<sup>b</sup></b>	Control(carragenina)	Diclofenaco sódico	-55,22400*	4,26461	,000	-66,529	-43,9183
	300 mg/kg	Diclofenaco sódico	-,74600	4,26461	,999	-12,052	10,5597
	100 mg/kg	Diclofenaco sódico	-3,73200	4,26461	,795	-15,038	7,5737
	30 mg/kg	Diclofenaco sódico	-18,52600*	4,26461	,001	-29,832	-7,2203
* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.							
b. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.							

Realizado por: Velata A., 2024

El test de Tukey nos permite evidenciar que existe una diferencia significativa o si existe una estrecha relación significativa entre cada grupo tratados y gracias a el test de Dunnett se logra comparar los grupos con estándar que es el Diclofenaco. En la tabla 4-11 muestra que el control (carragenina) es diferente porque se administra el vehículo que es agua no tiene reducción a la inflamación. El grupo administrado 30 mg/kg del extracto del fruto, a pesar de presentar actividad antiinflamatoria, es muy diferente al resto de grupos tratados con el extracto. En cambio, tanto el

tratamiento a 300 mg/kg y 100 mg/kg presenta relación con el grupo tratado con Diclofenaco sódico (100 mg/kg), evidenciando que tiene efectos similares al estándar.

**Tabla 4-11:** Tabla de comparación de medias que son significativamente diferentes

<b>Tabla de comparación de medias de los porcentajes de inhibición</b>					
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>	<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = 0.05</b>		
	Control (carragenina)	5	0,0000		
	30 mg/kg	5		36,6980	
	100 mg/kg	5			51,4920
	300 mg/kg	5			54,4780
	Diclofenaco sódico	5			55,2240
	Sig.		1,000	1,000	0,903

Realizado por: Velata A., 2024

Los extractos del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* tienen una actividad antiinflamatoria similar al Diclofenaco sódico, recalando que a altas dosis tiene mayor efecto. Estudios realizados en Perú evalúan la actividad antiinflamatoria de la misma planta y similar metodología, pero a diferentes concentraciones de 300 mg/kg y 600 mg/kg, reportando el promedio del efecto antiinflamatorio expresados en volumen de agua destilada desplazado, afirmando que a la 5 hora no existe evidencias de inflamación y que estadísticamente se evidencia que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos y el control positivo. Afirmando que ambas dosis tienen efecto antiinflamatorio y al tener gran cantidad de flavonoides y fenoles presenta el efecto. (Montes 2019, pp. 18-76)

#### **4.5.3 Dosificación con actividad antiinflamatoria**

Se realizó una evaluación exhaustiva de la actividad antiinflamatoria de varios extractos etanólicos, y tras análisis y pruebas estadísticas, se confirmó que el extracto del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* posee esta propiedad. Se observó que todas las dosificaciones de extracto etanólico de mortiño presenta una notable actividad antiinflamatoria. Es importante destacar que los tratamientos con dosis de 300 mg/kg y 100 mg/kg muestran un efecto similar al del Diclofenaco sódico (100 mg/kg), aunque la dosis de 300 mg/kg se revela como la más eficaz.

Estudios realizados a nivel celular en macrófagos de ratones en Ecuador han corroborado la actividad antiinflamatoria del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth*. Además, investigaciones in vivo llevadas a cabo en ratones *Mus musculus* en Perú, utilizando dosificaciones más elevadas,

han confirmado esta propiedad, específicamente demostrando que el extracto del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* de Pilahui-Tungurahua a una dosificación de 300 mg/kg es efectivo en este sentido.

Por otra parte, en comparación con familia de *Vaccinium*, existe evidencia que en *V. corymbosum* su reducción de inflamación es menor a los resultados obtenidos por lo que será útil para la creación de nuevos productos a base del extracto etanólico para el beneficio de la sociedad, obteniendo como resultado que, a mayor dosis, mayor efecto antiinflamatorio en los extractos de la familia de *Vaccinium*.

El fruto del mortiño presenta una destacada capacidad antioxidante, la cual se ve potenciada por la presencia abundante de flavonoides y fenoles totales, conocidos por sus propiedades antiinflamatorias. Es por ello que se optó por utilizar el extracto etanólico al 80% para evaluar la actividad antiinflamatoria, destacando la alta concentración de compuestos fenólicos en los diferentes extractos.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

#### 5.1.1 CONCLUSIÓN

- Se determinando que todos los extractos tienen alto contenido de flavonoides y fenoles totales. Mostrando que el extracto a 80% tiene mayor contenido de compuestos fenólico que se utilizó para evaluar la actividad antiinflamatoria.
- Se evaluó la actividad antiinflamatoria a distintas concentraciones demostrando que los extractos del fruto *Vaccinium floribundum Kunth* (Mortño) posee actividad antiinflamatoria. Mostrando que el extracto a dosificación de 100 mg/kg y 300 mg/kg tienen una alta actividad antiinflamatoria.
- Mediante la técnica de carragenina se determinó que la concentración con mayor actividad antiinflamatoria es de 300 mg/kg teniendo similar actividad con el estándar, comprobando con revisiones bibliografías que los extractos del fruto de *Vaccinium floribundum Kunth* (Mortño) a altas concentraciones tiene mayor efecto antiinflamatorio.

### **5.1.2 RECOMENDACIÓN**

- Se sugiere emplear un número preciso de biomodelos animales apropiado para la investigación, teniendo en consideración los principios de bioética animal.
- Se recomienda realizar más estudios de actividad antiinflamatoria al resto de extractos obtenidos, aplicando otros métodos para la comparación de la misma. Esto puede proporcionar información sobre su potencial relativo y ayudar en la selección de la mejor opción terapéutica.
- Realiza estudios adicionales para evaluar la seguridad y toxicidad del extracto etanólico, especialmente a dosis más altas o en un período de tiempo prolongado. Esto es crucial para determinar su perfil de seguridad y establecer dosis seguras y eficaces para su uso terapéutico.
- Realizar productos a base del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth, así como estudios de estos, para conocer los beneficios que puedan aportar a la población.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ALCÁNTARA, Antonio., & SÁNCHEZ, Clara.** “Antiinflamatorios no esteroideos y riesgo de insuficiencia cardiaca: nuevas aportaciones”. *Revista de la Sociedad Española del Dolor* [en línea]. 2018, (España), vol. 25 (5), págs. 306-308. [Consultado el 13 de mayo de 2023]. ISSN 1134-8046. Disponible en: [doi:10.20986/resed.2016.3518/2016](https://doi.org/10.20986/resed.2016.3518/2016)
2. **ALDAZ, Jorge; et al.** “Estudio de vegetación asociada de *Vaccinium floribundum* Kunth en una localidad de páramo y de bosque montano alto perturbado en la provincia de Chimborazo”. *Revista científica - profesional* [en línea], 2022, (Ecuador) vol. (7), págs 648–660. [Consulta: 17 noviembre 2023]. ISSN 2550-682X. Disponible en: <https://doi.org/10.23857/pc.v7i5.3986>
3. **ANDRADE, José, & MURILLO, Marco.** EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE *Aristeguietia glutinosa* EN RATONES *Mus musculus*”. [En línea] (Trabajo de titulación) (maestría). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. 2019. [consultado el 26 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/13085>
4. **AYALA, Miguel Á.** El ratón como animal de experimentación. *Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio* [en línea]. 2021, págs. 121–141. [consultado el 25 de mayo de 2023]. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/132247/Documento\\_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/132247/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
5. **BEDOYA, José; et al.** “Extracción de antioxidantes de los arándanos (*Vaccinium corymbosum*): efecto de solventes verdes sobre polifenoles totales, capacidad antioxidante y comportamiento electroquímico”. *Revista tecnológicas* [en línea], 2022, (Colombia) vol. 25 (53), págs. 2-23. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN 2256-5337. Disponible en: <https://doi.org/10.22430/22565337.2277>
6. **BENÍTEZ, Ricardo; et al.** “Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales”. *Revista Facultad de Ciencias Básicas* [en línea], 2020, (Colombia) vol. 15 (1), págs. 31-40. [Consultado: 20 de noviembre 2024]. ISSN 1900-4699. Disponible en: <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>



7. **BOADA, María; et al.** La experimentación animal [en línea]. Española: *Scientific American*, 2011. [consultado el 25 de mayo de 2023]. Disponible en: [https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la\\_experimentacion\\_animal.pdf](https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la_experimentacion_animal.pdf)
8. **BRAVO, Estefanía.** La Biodiversidad del Ecuador [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad Politécnica Salesianas, Facultad de Ciencias sociales y comportamiento humano, Cuenca-Ecuador. 2014. Págs. 8-140. [Consulta 22 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf>
9. **CHEN HSIANG, Kimberly; et al.** “Non-steroidal anti-inflammatories for analgesia in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials”. *Revista medRxiv* [en línea], 2023, [Consultado: 30 de noviembre 2023]. ISSN. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2023.01.03.23284166>
10. **CHEN, Linlin; et al.** “Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs”. *Revista Oncotarget* [en línea], 2018, (China) vol. (6), págs. 7204 -7218. [Consultado: 15 de noviembre 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
11. **COBA SANTAMARÍA, Pablo; et al.** “Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. La Granja”. *Revista de Ciencias de la Vida* [en línea]. 2012, 16(2), págs. 5-13. [Consulta: 23 de mayo de 2023]. ISSN: 1390-3799. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476047400002>
12. **CORDEIRO, Kátia; et al.** “Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Croton urucurana* Baillon bark”. *Ethnopharmacol* [en línea], 2016, (Pretoria) vol. 13 (183), págs 128-135. [Consulta: 20 de diciembre 2023]. ISSN 6944237. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.051>
13. **DO NASCIMENTO, Raquel, et al.** “Presence Of Non-Steroidal Anti-Inflammatories In Brazilian Semiarid Waters. Water, Air, & Soil Pollution”. *Revista Water Air Soil Pollut* [en línea], 2023, vol. (234). [Consultado: 20 de diciembre 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06239-2>
14. **ENCISO, Edwin, & ARROYO, Jorge.** “Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas”. *Revista Anales de La Facultad de Medicina* [en línea], 2011, (Perú) vol. (72), [Consultado:

20 de enero 2024]. ISSN 1025-5583. Disponible en: [https://doi.org/http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832011000400002&lng=es&tlng=es](https://doi.org/http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000400002&lng=es&tlng=es)

**15. GARCÍA, Jhoselyn.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos acuoso y etanólico de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) en macrófagos de ratón [En línea] (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad Central del Ecuador. Quito. 2017. pp. 20-47 [consultado el 13 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/7455>

**16. GARCÍA, Irma; et al.** “Aspectos de seguridad en el tratamiento del dolor con analgésicos antiinflamatorios no esteroideos”. *Revista de sanidad militar* [en línea], 2018, (México) vol. 72 (5-6), págs. 324-331. [Consulta: consultado el 21 de mayo de 2023]. ISSN 0301-696X. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-696X2018000400324](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-696X2018000400324)

**17. GARCÍA, Pedro.** INFLAMACIÓN. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* [en línea]. 2008, 102(1), pp. 91-159. [consultado el 21 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

**18. GERMOLEC, Dori; et al.** “Markers of Inflammation. *Immunotoxicity Testing*”. *Methods in Molecular Biology* [en línea], 2018, (New York) 1803, pp. 57–79. [consultado el 15 de junio de 2023]. ISSN 978-1-4939-8549-4. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5)

**19. GONZÁLEZ Coria, Johana, & HORIANSKI, Marta.** “Actividad Antibacteriana in vitro de extractos Hidroalcohólicos secos de Yerba Mate elaborada procedente de Paraguay”. *Revista ciencia y tecnología*, 2018, (Paraguay) vol. (30).

**20. GONZÁLEZ, Maricarmen, & PADRÓN, Alexander.** “La inflamación desde una perspectiva inmunológica”. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 2019, (Habana) vol. (18), págs. 30-40. ISSN 1729-519X.

**21. GUELMES, Arianna, et al.** “Reacciones adversas al diclofenaco sódico notificadas en el servicio de Ortopedia del Hospital Joaquín Albarrán”. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar Del Río*, 2021, vol. (25).

22. **GUERRERO, Andrea.** “Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en la sierra del Ecuador para uso agroindustrial” [En línea] (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad de las Américas. Quito. 2019. [consultado el 20 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/10702>
23. **KEB, Alberth.** “Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación”. *Revista de La Asociación Dental Mexicana* [en línea], 2022, vol. (79), págs. 38-47. [Consultado: 29 noviembre 2024]. ISSN 0001-0944. Disponible en: <https://doi.org/10.35366/103817>
24. **LEÓN, Lisset et al.** “Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares”. *Revista Finlay* [en línea]. 2015, 5(1), pp. 47-62. [consultado el 21 de mayo de 2023]. ISSN 2221-2434. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rf/v5n1/rf06105.pdf>
25. **LLANGA, Danny.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. en ratones *Mus musculus*. [En línea] (Trabajo de titulación) (maestría). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. 2022. [consultado el 26 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/17341>
26. **LLIVISACA, Susana et al.** “Caracterización química, antimicrobiana y molecular de frutos y hojas de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)”. *Revista Food Science & Nutrition* [en línea]. 2018, 6(4), 934–942 [consultado el 20 de mayo de 2023]. Disponible en: [doi:10.1002/fsn3.638](https://doi.org/10.1002/fsn3.638)
27. **MEJÍA, Alexander.** Análisis de la utilización de antiinflamatorios no esteroideos en adultos mayores que asisten al centro de salud La Libertad 12 horas [En línea] (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad de las Américas. Quito. 2017. [consultado el 13 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/26763/1/UCE-FCQ-CQF-CORDOVA%20EMILY.pdf>
28. **MELÉNDEZ J, María Raquel et al.** “*Vaccinium spp.*: Karyotypic and phylogenetic characteristics, nutritional composition, edaphoclimatic conditions, biotic factors and beneficial microorganisms in the rhizosphere”. *Scientia Agropecuaria* [en línea]. 2021, 12(1), 109–120

[consultado el 18 de mayo de 2023]. ISSN 2306-6741. Disponible en: doi: 10.17268/sci.agropecu.2021.013

**29. MONTES, Miriam.** Efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (MULLACA) sobre la inflamación inducida por carragenina en *Mus musculus* var. albinus. [tipo de documento]. (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad Católica los Ángeles Chimbote. Lugar (Chimbote - Perú). 2019.

**30. MORALES, Shailili; et al.** “Plantas medicinales con capacidad antioxidante estudiadas en los últimos 15 años”. *South Florida Journal of Developmen*. [en línea], 2023, (Miami), vol. 4 (2), págs. 929–946. [Consultado: 18 de enero 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.46932/sfjdv4n2-024>

**31. OCHOA, Alba, et al.** “Efecto Inhibitorio de Extractos Hidroalcoholicos de Larrea Tridentata Sobre Saprolegnia Sp”. *Revista Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* [en línea], 2023, vol. (7), págs. 2968-2990. [Consultado: 18 de enero 2024]. Disponible en: [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i5.7934](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.7934)

**32. PAMUK, Ferda, & KANTARCI, Alpdogan.** “Inflammation as a link between periodontal disease and obesity”. *Revista Periodontology 2000* [en línea], 2022, vol. (90), págs. 186-196. [Consultado: 24 de enero del 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/prd.12457>

**33. PANCHAL, Nagesh & PRINCE, Eva.** “Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A current insight into its molecular mechanism eliciting organ toxicities”. *Revista Food and Chemical Toxicology* [en línea], 2023. [Consultado: 27 de enero 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113598>

**34. PASTOR, María.** Contenido de flavonoides totales de los frutos de *Gaultheria myrsinoides* Kunth “macha macha” y *Vaccinium floribundum* Kunth “mortillo. (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad San Pedro. Lugar (Chimbote-Perú). 2019.

**35. RAMOS DOS SANTOS, Lago et al.** “Uso indiscriminado de antiinflamatorios no esteroidales y sus relaciones con enfermedades gastrointestinales”. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* [en línea]. 2022, **6**(6), 1789–1802 [consultado el 22 de mayo de 2023]. ISSN 2707-2215. Disponible en: doi:10.37811/cl\_rcm. v6i6.3637

- 36. ROMÁN, Virginia & REYES, Gina.** Actividad Antiinflamatoria Del Extracto Etanólico De Los Frutos De *Vaccinium CORYMBOSUM* L. (Arándano) En Ratas Holtzman. [en línea]. (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias De La Salud, Escuela de Farmacia y Bioquímica. Lima- Perú, 2023. Págs. 1- 48 [Consulta: el 13 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1539/TESIS20BASURTO-REYES.pdf>
- 37. TORRI, Eliane; et al.** “Anti-inflammatory and antinociceptive properties of blueberry extract (*Vaccinium corymbosum*)”. *Journal Pharm Pharmacol* [en línea], 2010, (Londres) vol. 59 (4), págs. 591-600. [Consulta: el 13 de febrero de 2024]. Disponible en: 10.1211/jpp.59.4.0015
- 38. VASCO, Catalina et al.** Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [en línea]. 2009, 57(18), pp. 8274–8281. [Consultado: el 13 de mayo de 2023]. ISSN 1520-5118. Disponible en: doi:10.1021/jf901358
- 39. VINUEZA, Diego, et al.** “Assesment 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) vol. (10), págs. 160- 196. [Consultado: 30 de enero 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i6.17574>
- 40. YÁÑEZ, Luis.** Compuestos fenólicos en plantas del Ecuador, revisión de propiedades y beneficios medicinales. [en línea]. (Trabajo de titulación) (maestría). Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Química Farmacéutica, Quito-Ecuador. 2022. págs. 1 – 38 [Consulta: 29 de enero del 2024]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/26414>
- 41. ZHANG, Zenglei, et al.** “Role of inflammation, immunity, and oxidative stress in hypertension: New insights and potential therapeutic targets”. *Revista Frontiers in Immunology* [en línea], 2023, (China) vol. (13). [Consultado: 29 de enero del 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1098725>
- 42. ZÚÑIGA, Miguel.** Caracterización del hábitat de crecimiento del mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) en el páramo de Cotacachi, Ecuador. [En línea]. (Trabajo de titulación) (maestría) Universidad de Las Américas. Quito-Ecuador. 2017. [Consulta: 30 de enero del 2024]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/8031>

## ANEXOS

### ANEXO A. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL “FRUTO DEL MORTIÑO”



### ANEXO B. SECADO DEL MATERIAL VEGETAL “FRUTO DEL MORTIÑO”



### ANEXO C. TRITURADO Y MACERACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL “FRUTO DEL MORTIÑO”



### ANEXO D. EXTRACTO BLANDO DE *Vaccinium Floribundum Kunth*



**ANEXO E. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**



**ANEXO F. AMBIENTALIZACIÓN DE LOS RATONES DE EXPERIMENTACIÓN**



**ANEXO G. ETIQUETADO A LOS GRUPOS EXPERIMENTACIÓN PARA LA ADMINISTRACIÓN**

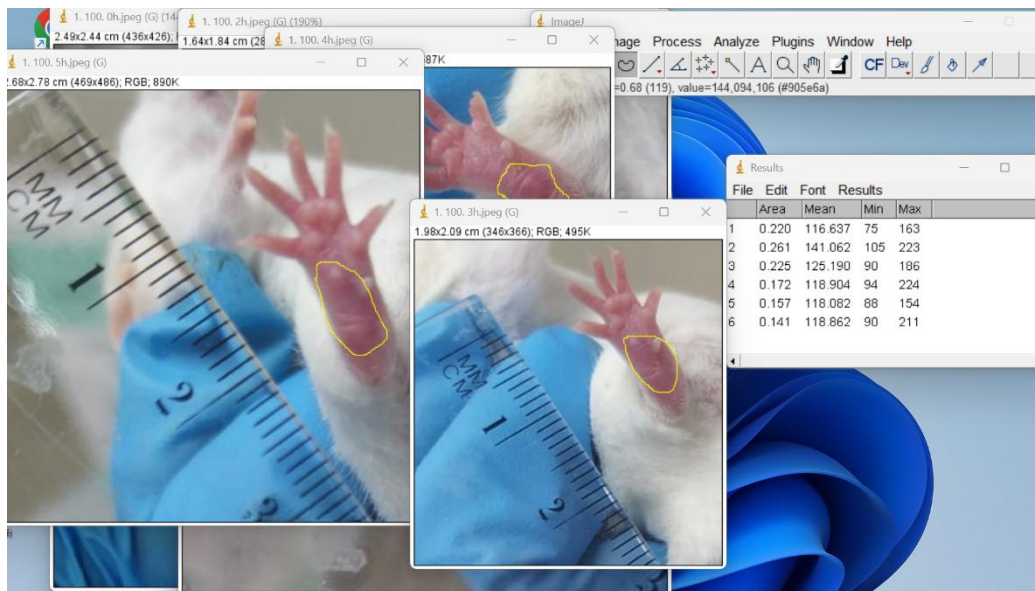




**ANEXO H. PREPARACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO Y DE GRUPOS DE CONTROL**



**ANEXO I. OBTENCIÓN DE LOS VALORES CUALITATIVOS EN EL PROGRAMA IMAGE J.**


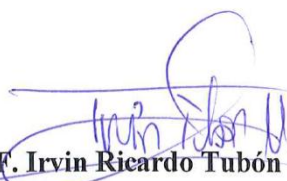






**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA**  
**NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO**

**Fecha de entrega:** 24/06/2024

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Antony Fabricio Velata Paguay
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Bioquímica y Farmacia
<b>Título a optar:</b> Bioquímico Farmacéutico
 <b>BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinueza</b> <b>Director del Trabajo de Integración Curricular</b>
 <b>BQF. Irvin Ricardo Tubón Usca</b> <b>Asesor del Trabajo de Integración Curricular</b>