



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS
(*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) EN RATAS
(*Rattus norvegicus*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

PRESENTADO POR

PAULINA FERNANDA PARRA ALVAREZ.

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a Dios por darme la valentía y persistencia para siempre levantarme y ponerme de pie en esta lucha constante, culminando una etapa importante en mi vida.

A mis padres, por haberme dado la oportunidad de vivir.

A mi esposo, que siempre fue un pilar de apoyo importante; a mis hijos que llegaron a mi vida como una fuente inagotable de esperanza.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, por haberme formado como profesional y persona para poder servir a mi país.

A la Dra. Cumanda Játiva por su asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

Al BQF. German Toapanta, por su valiosa colaboración en el aporte brindado en la elaboración del trabajo e investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS (*Miconia pseudocentrophora, Brachyotumle difolium, Fuchsia loxensis*) EN RATAS (*Rattus novergicus*)**” de responsabilidad de la señorita egresada Paulina Fernanda Parra Alvarez. ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Cumandá Játiva
DIRECTOR DE TESIS

Dr. Jacinto Mera
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez
**DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN**

NOTA DE TESIS

Yo, **Paulina Fernanda Parra Alvarez**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

PAULINA FERNANDA PARRA ALVAREZ.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
HSD	Diferencia Estadísticamente Significativa
M	Molar
Ac.	Acido
DL ₅₀	Dosis letal media
°C	Grados Celsius
G	Gramo
Kg	Kilogramo
L	Litro
M	Metro
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	mililitro
DL	Dosis Letal
R	Radical
Rf	Factor de retención
conc	Concentrado
cm	Centímetro
ug	Microgramo

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS
ÍNDICE DE CUADROS
ÍNDICE DE GRÁFICOS
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS
ÍNDICE DE ANEXOS
INTRODUCCIÓN

Contenido

1. MARCO TEORICO.....	1 -
1.1 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.....	1 -
1.1.1 DEFINICIÓN.....	1 -
1.1.2 FARMACOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN.....	1 -
1.1.3 CICLOXIGENASAS.....	2 -
1.2 BRACHYOTUM.....	3 -
1.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	3 -
1.3 MICONIA PSEUDOCENTROPHORA.....	4 -
1.3.1 DESCRIPCION BOTANICA.....	5 -
1.4 FUCHSIA LOXENSIS.....	5 -
1.4.1 DESCRIPCION BOTANICA.....	6 -
1.5 EXTRACTOS VEGETALES.....	6 -
1.5.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	7 -
1.5.1.1 Maceración.....	7 -
1.5.1.2 Percolación o lixiviación.....	7 -
1.5.2 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.....	7 -
1.5.3 FUNDAMENTO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN.....	9 -
1.5.4 RATAS (<i>Rattus norvegicus</i>).....	11 -
1.5.4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	11 -
1.5.4.2 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE BIOLÓGICA.....	12 -

1.5.4.3 MEDIDAS	- 12 -
1.6 PRUEBAS IN VITRO.....	- 13 -
1.7 EVALUACIÓN.....	- 14 -
1.9 PRUEBAS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	- 15 -
1.10 EXAMEN QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS	- 15 -
1.11 PREPARACION DE LOS SUBEXTRACTOS.....	- 19 -
1.11.1 SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICO	- 19 -
2. PARTE EXPERIMENTAL	- 20 -
2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	- 20 -
2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	- 20 -
2.2.1 MATERIAL VEGETAL E IDENTIFICACION TAXONÓMICA.....	- 20 -
2.3 MATERIAL BIOLÓGICO.	- 21 -
2.4 MATERIALES DE LABORATORIO.....	- 21 -
2.4 EQUIPOS	- 20 -
2.5 REACTIVOS	- 20 -
2.6 TÉCNICAS Y MÉTODOS.....	- 20 -
2.6.1 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL	- 20 -
2.6.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD	- 25 -
2.6.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	- 25 -
2.6.3.1 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES.....	- 26 -
2.7 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE PARTE AEREA DE <i>Miconia pseudocentrophora</i> , <i>Brachyotum ledifolium</i> , <i>Fuchsia loxensis</i>	- 26 -
2.7.1 PREPARACION DE LOS SUBEXTRACTOS DE LA PARTE AEREA DE <i>Miconia pseudocentrophora</i> , <i>Brachyotum ledifolium</i> , <i>Fuchsia loxensis</i>	- 27 -
2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO.	- 27 -
2.3.3.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO	- 27 -
2.3.3.2 DETERMINACIÓN DEL pH.....	- 28 -

2.3.3.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN	- 28 -
2.3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA	- 29 -
2.3.4.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	- 30 -
2.3.4.1 Ensayo de Dragendorff	- 30 -
2.3.4.2 Ensayo de Mayer	- 30 -
2.3.4.3 Ensayo de Wagner	- 30 -
2.3.4.4 Ensayo de Baljet	- 30 -
2.3.4.5 Ensayo del cloruro férrico	- 31 -
2.3.4.6 Ensayo de la espuma	- 31 -
2.3.4.7 Ensayo de Shinoda	- 31 -
2.3.4.8 Ensayo de principios amargos	- 32 -
2.3.5 PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA	- 32 -
2.3.6 ANIMALES DE EXPERIMENTACION.	- 34 -
2.3.7 MODELO EXPERIMENTAL	- 38 -
Cuadro No. 1 ESQUEMA DE ENSAYO UTILIZADO PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE 3 TRATAMIENTOS	- 38 -
3. RESULTADOS Y DISCUSION	- 39 -
3.1 CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA	- 39 -
3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	- 39 -
3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS	- 39 -
3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PARTE AEREA DE (<i>Miconia pseudocentrophora</i>), LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>), ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>)	- 41 -
3.2.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO	- 42 -
3.2.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	- 45 -

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANOLITOS Y SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS.....	- 48 -
3.3.1 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTO ETANÓLICO Y SUBEXTRACTO CLOROFORMICO DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA.	- 49 -
4. CONCLUSIONES	- 67 -
5. RECOMENDACIONES	- 70 -
6. RESUMEN	- 71 -
7. BIBLIOGRAFÍA	- 73 -
8. ANEXOS	- 79 -

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía No. 1 Brachyotum.....	- 3 -
Fotografía No. 2 Miconia Pseudocentrophora.....	- 4 -
Fotografía No. 3 Fuchsia Loxensis	- 5 -
Fotografía No. 4 RattusNovergicus.	- 21 -
Fotografía No. 5 Aclimatación	- 35 -
Fotografía No. 6 Grupos.....	- 35 -
Fotografía No. 7 Inducción Edema.....	- 36 -
Fotografía No. 8 Inducción con Carragenina	- 36 -
Fotografía No. 9 Tratamiento	- 37 -
Fotografía No. 10 Medida edema.	- 37 -
Fotografía No. 11 Balanza Analítica	- 79 -
Fotografía No. 12 Estufa	- 79 -
Fotografía No. 13 Mufla	- 79 -
Fotografía No. 14 Desecador.....	- 79 -
Fotografía No. 15 pH-metro	- 80 -
Fotografía No. 16 Refractómetro.....	- 80 -
Fotografía No. 17 Brachiotum.....	- 80 -
Fotografía No. 18 E. Espuma	- 81 -
Fotografía No. 19 Compuestos fenólicos.....	- 81 -
Fotografía No. 20 E. Chalconas.....	- 81 -
Fotografía No. 21 E. Quinonas	- 81 -
Fotografía No. 22 Sesquiterpenolactonas.....	- 81 -
Fotografía No. 23 Rosentaler	- 81 -
Fotografía No. 24 E. Espuma	- 82 -
Fotografía No. 25 Compuestos fenólicos.....	- 82 -
Fotografía No. 26 E. Shinoda.....	- 82 -
Fotografía No. 27 Quinonas	- 82 -
Fotografía No. 28 Rosentaller	- 82 -
Fotografía No. 30 Manipulación.....	- 83 -
Fotografía No. 31 Aplicación de la sedación	- 83 -
Fotografía No. 32 Edema plantar con tratamiento Miconia a la 3.....	- 83 -
Fotografía No. 33 Edema plantar con tratamiento Brachiotum a la 3 hora	- 83 -
Fotografía No. 34 Edema plantar con tratamiento Brachiotum a la 3 hora	- 83 -

Fotografía No. 35 Edema plantar con tratamiento Brachiotum a la 8 hora	- 83 -
Fotografía No. 36 Edema plantar con tratamiento Fuchsia a la 3 hora.....	- 84 -
Fotografía No. 37 Edema plantar con tratamiento Fuchsia a la 8 hora.....	- 84 -

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1 ESQUEMA DE ENSAYO UTILIZADO PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE 3 TRATAMIENTOS.	38 -
Cuadro No. 2 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS VEGETALES.	40 -
Cuadro No. 3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICAS DE LOS VEGETALES.	42 -
Cuadro No. 4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>).	45 -
Cuadro No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DELLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>).	46 -
Cuadro No. 6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>).	47 -
Cuadro No. 7 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE LOS VEGETALES.	48 -
Cuadro No. 8 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.	49 -
Cuadro No. 9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.	50 -
Cuadro No. 10 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.	51 -
Cuadro No. 11 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	52 -

Cuadro No. 12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. .-	53 -
Cuadro No. 13 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.ANOVA UN FACTOR.-	54 -
Cuadro No. 14 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.-	55 -
Cuadro No. 15 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.....	55 -
Cuadro No. 16 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.-	56 -
Cuadro No. 17 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.-	57 -
Cuadro No. 18 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS....	58 -
Cuadro No. 19 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE	

	COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.	59 -
Cuadro No. 20	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	60 -
Cuadro No. 21	ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS... ..	61 -
Cuadro No. 22	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.	62 -
Cuadro No. 23	VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE COLCA), LLUMBRE, ARETE DE INCA.....	63 -
Cuadro No. 24	VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFORMICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA.-	63 -
Cuadro No. 25	% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA	64 -
Cuadro No. 26	% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA.....	65 -
Cuadro No. 27	DATOS ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTO ALCOHÓLICO Y SUBEXTRACTO CLOROFORMICO RESPECTIVAMENTE DE COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>), LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>), ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.....	85 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico No. 1	CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.	- 50 -
Gráfico No. 2	CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	- 53 -
Gráfico No. 3	CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	- 56 -
Gráfico No. 4	CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	- 58 -
Gráfico No. 5	CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.	- 61 -
Gráfico No. 6	VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS	- 63 -
Gráfico No. 7	VOLUMEN DE INFLAMACION DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS.	- 64 -
Gráfico No. 8	% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN INFLAMACIONI DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS.	- 65 -

Gráfico No. 9 % DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS
SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS Y GRUPOS CONTROL
DURANTE 8 HORAS- 66 -

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo No. 1 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA	- 79 -
Anexo No. 2 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHOLICO	- 80 -
Anexo No. 3 TAMIZAJE FITOQUIMICO DE LAS PARTES AEREAS DE LOS VEGETALES	
Anexo No. 4 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 85 -

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han acompañado la evolución del hombre históricamente y han estado ligadas a la forma de curar ancestral. Es por ello que forman parte de lo que ahora se conoce como medicina tradicional. Este es el caso del bosque nativo de San Francisco de Guayllabamba del Cantón Chambo- Provincia de Chimborazo; que sin la intervención humana tienen un ecosistema de plantas propias del lugar. Tomando en cuenta el uso empírico de los habitantes de este sector como la Sra. Josefa Morocho Tixi y su esposo, los que aseguran que son utilizadas para tratar la gripe de los pollos, y para adornos rituales religiosos; por lo que se han elegido para la presente investigación; los que se han sido identificados en trabajos de Tesis en la Escuela de Ingeniería y Turismo en la ESPOCH (2003-2004) y corroborado por el Ing. Jorge Caranqui, el que asegura que se trata de especies propias del lugar, las que se conocen con nombre científico como: *Brachiotum ledifolium*, *Miconia pseudocentrophora*, *Fuchsia loxensis*; los cuales presentan flores de colores intensos; lo que puede indicar la presencia de compuestos Flavonoides, por lo cual se pretende evaluar la actividad antiinflamatoria mediante pruebas in vitro, ya que los flavonoides poseen una elevada afinidad para unirse a proteínas y otras macromoléculas biológicas, así como aniones metálicos, además de presentar una gran capacidad para catalizar el transporte de electrones y captar radicales libres. Teniendo como argumento que la inflamación está provocada por gérmenes patógenos y por lesiones de la piel, se sabe que en trabajos realizados en la Habana Cuba (dic2012) se demuestra que en animales de experimentación; los flavonoides inhiben la actividad inflamatoria formando un complejo con la pared celular bacteriana. Por tanto se indica en bibliografía, que los flavonoides son los responsables de la actividad antiinflamatoria, ya que presenta una disminución de actividad de la COX-1, de la COX-2 contribuyendo a mejorar su capacidad antiinflamatoria.

En el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

- “Evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en ratas (*Rattus norvegicus*)”
- Recolectar el material vegetal e identificar su taxonomía

- Preparar los extractos etanólico y sub extractos clorofórmicos y determinar sus propiedades físicas y químicas
- Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico y subextractos clorofórmicos de (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en ratas Winstar inducidas la inflamación.
- Aplicar un DCA del efecto antiinflamatorio.

El método aplicado para evaluar el efecto antiinflamatorio, se lo hizo mediante la prueba de edema plantar inducido en ratas por carragenina (0,5 %).

Eligiendo un número de 20 ratas, de los cuales se tuvo un blanco, y un estándar (Naproxeno conc.33mg/ Kg) ; disponiéndose en 3 lotes, para cada uno de los vegetales, con repeticiones por triplicado; para el extracto alcohólico y sub extracto clorofórmico respectivamente.

Los tiempos de medición se eligieron en base al control positivo, que se hizo previamente a las ratas para establecer los picos de la inflamación, siendo estos 1,3,5,7, y 8 hora donde empieza a perder el efecto la carragenina.

Los resultados que se obtuvieron son favorables para los sub extractos clorofórmicos de la *Miconia pseudocentrophora*, la que inhibe en mayor porcentaje la inflamación, seguida por el *Brachiotum ledifolium*, y la *Fuchsia loxensis*.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.

1.1.1 DEFINICIÓN

Consiste en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, también inhiben otros procesos celulares e inmunitarios como la producción de anticuerpos, acoplamiento antígeno anticuerpo y la liberación de histamina, e inhiben la permeabilidad capilar. (3,6)

1.1.2 FARMACOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación es una respuesta fisiológica del organismo cuyo objetivo es proteger y liberar al individuo de la causa inicial de la lesión y de las consecuencias de la misma. La inflamación permite la destrucción gérmenes patógenos y después promueve la reparación y cicatrización del tejido lesionado. Si no existiera la reacción inflamatoria, las infecciones y toxinas se propagarían por el organismo causando lesiones graves y la muerte.(3,6)

Hoy en día se sabe que la inflamación presenta tres componentes principales:

- Modificación en el calibre de los vasos que aumenta el flujo sanguíneo regional al lugar afectado.
- Alteraciones en la permeabilidad microvascular que permite la salida de células y sustancias hacia el intersticio.
- Migración de los leucocitos que abandonan el torrente sanguíneo y se dirigen hacia el foco de la lesión en donde se activa y organiza la respuesta inflamatoria.

Dentro de los mediadores químicos se encuentran están: histamina, serotonina, enzimas lisosomales derivadas de neutrófilos, prostaglandinas, leucotrienos, citosinas, óxido nítrico y factores del complemento(6,3,2, 13).

Si bien la inflamación es un mecanismo protector, también se constituye en una fuente de lesión tisular o sistémica, ya que al mismo tiempo se destruye el germen causal, puede lesionar los órganos y sistemas afectados, la inflamación puede presentarse en forma aguda o formar parte de una enfermedad crónica que lesiona uno o más órganos del cuerpo. (3)

Se caracteriza por dolor persistente, tumefacción y deterioro funcional del área comprometida. El metabolismo del ácido araquidónico, componente de la porción lipídica de la membrana celular da lugar a mediadores inflamatorios de gran importancia bioquímica y farmacológica. Diferentes enzimas actúan sobre este compuesto: la ciclooxigenasa (COX) produce prostaglandinas (PG) y tromboxanos (TX), mientras que la lipoxigenasa produce leucotrienos.(2,24,3)

Las prostaglandinas son ácidos grasos insaturados de 20 carbonos que contienen un anillo ciclo pentano. Se aislaron inicialmente del semen, pero hoy se saben que son sustancias circulantes, presentes en todos los órganos del cuerpo. Pueden modificar la capacidad de los leucocitos para deformarse y atravesar las paredes capilares, disminuyen la secreción ácida gástrica, modifican funciones hipofisarias, estimulan la secreción de la renina y más importante aún, son fundamentales para un adecuado mantenimiento de la circulación tanto macro como microvascular. (2,3,6).

1.1.3 CICLOXIGENASAS.

El primer paso en la formación de las PG, es la liberación de ácido araquidónico proveniente de los fosfolípidos de membrana, gracias a la acción de la fosfolipasa A2. Debido a la necesidad imperativa que tiene la fosfolipasa A2 de calcio y calmodulina, este paso ha sido como el más limitante en la producción de PG.

La cicloxigenasa, también conocida como la sintetasa de PGH₂, es la enzima que cataliza los dos primeros pasos de la biosíntesis de PG a partir de ácido araquidónico los cuales son:

- Oxidación de ac. Araquidónico a PGG₂
- Reducción de PGG₂ a PGH₂
- La PGH₂ es transformada a través del mecanismo enzimático a prostanoides primarios.

La cicloxigenasa tipo1 se encarga de mediar la producción de sustancias que protegen la mucosa gástrica, regular mecanismos homeostáticos vasculares, modular la función plaquetaria, el metabolismo óseo y función renal. La cicloxigenasa 2 participa en la formación de prostaglandinas que promueven el dolor, la inflamación y de la fiebre, regulan la distribución regional del flujo sanguíneo.(2)

1.2 BRACHYOTUM



Fotografía No. 1 BRACHYOTUM

Melastomataceae

NOMBRES COMUNES

PUKA CHAKLLA, inchichaklla, patio fichana, llumbre

1.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Arbusto que puede alcanzar hasta 5m, los tallos tienen la corteza que se descascara, las hojas ovadas de 2,5 cm de largo, al tacto están recubiertas de diminutos pelitos. Las flores son colgantes, el cáliz es rojo y presenta pelos amarillos, los pétalos son de color amarillo pálido, forman un tubo. Los frutos son secos con diminutas semillas.

El género *Brachyotum* consta de 50 especies distribuidas en los Andes desde el centro de Colombia hasta el noroeste de la Argentina. En el Ecuador están representadas 21 especies, todas en los subpáramos y páramos y ocasionalmente en el bosque andino.

USOS. La flor es comestible y tiene sabor dulce. El tallo se usa como escoba y como largueros para las viviendas, también como arcos en las iglesias y como adornos para las fiestas. El zumo se usa para extraer tintes indelebles, también se usa para tratar catarro en pollos. En agroforestería, la planta se usa como cerca viva. (5,16,17)

1.3 MICONIA PSEUDOCENTROPHORA



Fotografía No. 2 MICONIA PSEUDOCENTROPHORA

Melastomataceae

NOMBRES COMUNES

Colca

1.3.1 DESCRIPCION BOTANICA

Es una especie de planta con flor en la familia de las Melastomataceae, arbusto, o pequeños árboles de 3 a 7 metros de altura. Hojas simples, opuestas, de margen entero y envés con pubescencia café, con nervaduras principales que se extienden desde la base de la lámina hasta el ápice. Flores: dispuestas en panículas terminales, con cinco pétalos blancos, filamentos blancos y anteras moradas. Frutos: bayas verdes cuando están inmaduras y negras al madurar, con numerosas semillas.

Algunas especies arbustivas se cultivan en jardines grandes ya que contienen alimento para la fauna silvestre. Si se hallan cerca de los ríos, sirven de alimento para los peces.(11,5,16,17,18)

1.4 FUCHSIA LOXENSIS



Fotografía No. 3 **FUCHSIA LOXENSIS**

Onagraceae

NOMBRE COMÚN

Arete de inca

1.4.1 DESCRIPCION BOTANICA

Son arbustos de 2 a 4 m, trepadoras, las hojas de *Fuchsia* son opuestas en grupos de 3-5, lanceoladas simples aunque normalmente presentan márgenes serrados de 1-25 cm de longitud, de hoja perenne. Posee matices en el cáliz fucsia intenso. Las flores son colgantes, de pedúnculos largos que las hacen mirar hacia abajo. El cáliz es cilíndrico, con cuatro lóbulos y corola de cuatro pétalos. Tienen forma de unos decorativos pendientes. Tienen cuatro sépalos alargados y estrechos, y cuatro pétalos cortos y anchos. El fruto es una baya pequeña (5-25 mm) rojo-verdosa oscura a rojo intensa, es comestible y presenta numerosas semillas pequeñas en su interior. (16, 17, 11)

El género *Fuchsia* consta de 100 especies distribuidas en las zonas montañosas desde México hasta Tierra del Fuego, en Nueva Zelanda y Tahití. En el Ecuador están representadas unas 30 especies andinas; muy pocas se distribuyen a 1000 m de altitud. El género es extremadamente diverso y se encuentra hasta los subpáramos; 22 especies se han registrado en los bosques andinos y subpáramos como en el bosque de San Pedro de Lluçud, Cantón Chambo, provincia de Chimborazo. (16, 17, 11)

En el Perú existen especies endémicas y son: la *Abrupta*, *andrei*, *apetala*, *ayavacencis*, *cestroides*, *denticulata*, y otras. (26)

En el Ecuador se han reportado la *Fuchsia ampliatabenth*, y la *F: hybrida Hort.* (25)

USOS: Dentro de este conjunto de *Fuchsias*, existen aplicaciones como laxantes, aunque no se conoce los mecanismos de acción. (16)

1.5 EXTRACTOS VEGETALES

Se define como extracto vegetal el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos ya sean estos, maceración, percolación, decocción, infusión, y con varios solventes como: etanol, agua, u otros. (18)

1.5.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados. (18)

1.5.1.1 Maceración

El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar o eliminar el solvente de extracción.(18)

1.5.1.2 Percolación o lixiviación

El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador.

El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar para en el residual tener el extracto (18)

1.5.2 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- Extractos fluidos o líquidos
- Extractos semisólidos o blandos
- Extractos secos

Extractos fluidos o líquidos.

También conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de material vegetal que contiene alcohol como disolvente o como preservante, o ambos, preparados de tal manera que cada mililitro contiene los constituyentes extraídos de 1 g del material crudo que representa, a menos que se especifique lo contrario en la monografía individual. Los extractos fluidos también pueden ser preparados a partir de extractos apropiados y pueden contener antimicrobianos y otros preservantes apropiados. (18)

Los extractos fluidos farmacopéicos son preparados por percolación, generalmente después de un período de maceración. El disolvente requerido está especificado en la monografía individual. El procedimiento de manufactura más común incluye la concentración de la porción más diluida del percolado por evaporación o destilación al vacío a temperaturas por debajo de los 60. El tiempo de maceración y la tasa de flujo durante la percolación pueden variar para ajustar la cantidad y naturaleza del material vegetal bajo extracción, siempre y cuando la composición de los constituyentes de interés extraídos no se vea comprometida. (18)

La tasa de flujo del percolado puede ser lenta, moderada o rápida. En referencia a la extracción de 1000g del material original, a una tasa lenta, no más de 1 mL del percolado producido por minuto; a una tasa moderada entre 1 y 3mL/min y a una tasa rápida, entre 3 y 5 mL/min. Un extracto fluido que tienda a depositar sedimento puede estar viejo, se debe decantar o filtrar la porción clara, siempre y cuando el resultante líquido clarificado cumpla con los estándares farmacopéicos. (18)

Extractos semisólidos o blandos

Los extractos semisólidos, se conocen también como extractos blandos o pilulares. Estas son preparaciones que tienen consistencias entre aquellas de los extractos fluidos y los extractos pulverizados, son obtenidos por evaporación parcial del disolvente (agua, alcohol o mezcla hidroalcohólica) utilizada en la extracción. Puede tener algún antimicrobiano apropiado u otro preservante. Un extracto semisólido y extracto pulverizado obtenido a partir del mismo material son intercambiables como drogas o como suplementos, pero cada uno tiene sus ventajas. (18)

Extractos pulverizados o secos

Los extractos pulverizados son preparaciones sólidas con consistencia de polvo obtenidas por la evaporación del disolvente utilizado para la extracción. Puede contener sustancias apropiadas añadidas, tales como excipientes, estabilizantes y preservantes. Los extractos pulverizados estandarizados son ajustados al contenido definido de los constituyentes, utilizando materiales inertes apropiados o un extracto pulverizado del material vegetal utilizado para la preparación. Donde se requiere, se debe especificar un límite para el disolvente utilizado durante la extracción en la monografía individual. (18)

1.5.3 FUNDAMENTO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

Consiste en la separación de una mezcla de sustancias por disolución de cada componente, sirviéndose de uno o varios disolventes, donde siempre se obtienen, por lo menos, dos componentes: la solución extraída en su disolvente (extracto y el residuo). (18)

Al embeber la droga con el líquido de extracción se disuelven primero las sustancias a las que el disolvente puede llegar sin obstáculos. Al triturar la droga se destruyen varias células donde el grado de finura creciente favorece la disolución. Las sustancias que están contenidas en la droga son lavadas y arrastradas de los fragmentos celulares por los disolventes mediante un proceso denominado “lavado celular”, simultáneamente, transcurre el proceso de difusión celular. El tiempo necesario para el equilibrio de concentraciones es, parcialmente, dependiente del tipo de droga, raíz u hoja y del grado de trituración. (18)

La extracción termina cuando se produce un equilibrio de concentraciones. Para cada extracción se necesita una droga y un líquido de extracción o disolvente que deben cumplir una serie de exigencias. La calidad del extracto vegetal depende de la calidad del material de partida. (18)

El contenido en sustancia activa de una droga viene determinado, generalmente, por factores previos a la cosecha y que pueden tener su origen en el tiempo de recolección, el lugar, el tipo de abono, suelo y factores climáticos, así como a los procesos de

envejecimiento o degradación que puedan ocurrir durante el secado y almacenamiento de la droga, es por ello necesario la estabilización de los mismos. (18)

Extracción de sólidos con líquidos: Lixiviación

Se denomina a la separación preferencial de uno o más componentes de una mezcla sólida por disolución en un solvente líquido. En la industria farmacéutica los dos procedimientos de extracción básicos son maceración y percolación, sumamos a esto la extracción por Soxhlet. (18)

El intercambio de materia entre una fase sólida y una líquida interviene en numerosos procesos de interés químico-técnico. La disolución de materias sólidas, con o sin transformaciones químicas, constituye uno de los primeros pasos en un buen número de industrias, en las que se trata de utilizar un componente valioso presente entre los sólidos. (18)

En otros casos, la operación tiene por objeto eliminar las impurezas indeseables: lavado de materiales diversos, desimpregnación de fibras celulósicas, etc. En determinados procesos y operaciones el intercambio de materia tiene lugar de forma inversa: por paso de la fase líquida a la sólida, cristalización, adsorción, cromatografía o intercambio iónico. (18)

En el caso de la lixiviación, se trata de la disolución en un disolvente apropiado de un componente o grupo de componentes que forman parte de un sólido, el cual contiene otros componentes insolubles. Existen, por tanto, dos fases, la sólida y la disolución. Las variables son temperatura, presión y concentración de soluto en la disolución. Todas ellas variables independientes. (18)

Variables de la extracción sólido-líquido

Como en el estudio de otras muchas operaciones, hay que considerar aquí el equilibrio que se tiende a alcanzar durante la operación y la velocidad con que se alcanza, en función de los diversos factores que pueden afectar a uno y a otra.

El conocimiento que se posee de la interface líquido-sólido es escaso y por ello el mecanismo primario del cambio de fase de un soluto presente, inicialmente, en forma

sólida, de la cual depende como es lógico, la cinética del proceso, permanece oscuro, haciendo difícil el desarrollo de una teoría general para esta operación. (18)

Los factores que influyen en el equilibrio son: La naturaleza del soluto, la naturaleza del disolvente, la presión, la temperatura.

En cambio, en la cinética del proceso, influyen además de los anteriores, la forma en que está dividido los sólidos, la presencia de restos de organización celular cuando se trata de tejidos animales o vegetales y las características propias del aparato y sistema de extracción que se emplee. (18)

FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO.

En un embudo de separación colocar 50 ml del extracto hidro-alcohólico, adicionar cloroformo 30 ml, agitar, y dejar en reposo hasta obtener dos fases. Separar las fases superior etanólico, y la inferior clorofórmica recolectar en un balón esmerilado previamente pesado.(18)

1.5.4 RATAS (*Rattus novergicus*)

1.5.4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Superreino: Eucariota

Reino: Animalia

Subreino: Eumetazoa

Superphylum: Deuterostomi

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Infraphylum: Gnathostomata

Superclase: Tetrapoda

Clase: Mammalia

Subclase: Theria

Infraclase: Placentalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Superfamilia: Muroidea

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: Rattus

Especie: norvegicus

Nombre binomial: Rattus norvegicus

Subspecies: R. n. albinicus-R. n. albus -R. n. norvegicus. (22,1)

1.5.4.2 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE BIOLÓGICA.

La rata noruega presenta un pelaje áspero y grueso con prominentes orejas desnudas y cola prácticamente desnuda, que generalmente es más corta que el cuerpo y cabeza. De color blanco.

Las hembras tienen 12 mamas. Posee cuatro incisivos, dos superiores y dos inferiores, carece de caninos y premolares anteriores lo que ocasiona que haya un diastema. (75)

Sus incisivos crecen durante toda su vida a partir de la base, que va sustituyendo la porción desgastada por la actividad de cortar y roer materiales duros. La parte exterior del diente es más dura y carece de nervio, salvo en la base. (1)

1.5.4.3 MEDIDAS

Longitud total: 80 a 480 mm.

Longitud de la cola: 187 mm en promedio 153 a 218 mm.

Longitud de la pata trasera: 37 a 44 mm promedio.

Peso: 200 a 300 g. (1).

CICLO REPRODUCTIVO

Puede ser a lo largo de todo el año, aunque se han reportado picos en primavera y otoño; las hembras son poliéstricas y pueden tener entre 1 y 12 camadas al año; presentan esto posparto.

Las hembras son receptivas por un período de 20 horas, cada 4 a 6 días (51)

Tiempo de gestación: De 21 a 26 días. (1)

TAMAÑO DE LA CAMADA

Desde 2 hasta 22 crías; promedio 8 a 9. Las crías nacen ciegas y desnudas, pero pueden ver y están completamente cubiertas de pelo a los 15 días, dejando el nido a los 22 días, aproximadamente.

Madurez sexual: Entre 2 y 3 meses. (1)

HÁBITOS ALIMENTICIOS

Omnívora, comiendo desde materia vegetal, hasta animal y en particular semillas, granos, nueces, vegetales y frutas, aunque también comen insectos y otros invertebrados. Esta especie come todo lo que el ser humano y más, incluyendo papel, cera de abejas, jabón, etc.

La comida comúnmente es llevada para almacenar a sus guaridas. En particular prefiere alimentarse de productos animales, tales como pájaros y huevos, y es excelente cazadora de peces. También se pueden alimentar de ratones, pollos y crías de cerdos y borregos, atacando en ocasiones animales mayores. La principal limitante es la presencia de agua. (1)

1.6 PRUEBAS IN VITRO.

Las pruebas in vitro evalúan la citotoxicidad del material de prueba o de sus extractos y se emplean cultivos de células o tejidos, las pruebas in vitro comprenden el uso de organismos inferiores como bacterias, algas y hongos; de fracciones subcelulares o incluso de material no biológico; de sistemas celulares a corto plazo, como las suspensiones celulares, tejidos de biopsia, rodajas de tejidos y órganos perfundidos; y cultivos celulares en forma de células, tejidos u órganos mantenidos en un medio nutriente.

Según la finalidad los ensayos in vitro pueden ser sustitutivos de los ensayos con animales, o bien pruebas de criba previas a las de aquellos, o con el carácter de

complementarias para mejorar la sensibilidad y especificidad de los estudios con animales.(23)

Los procedimientos In vitro tienen la entidad propia entre los métodos experimentales y proporcionan una información más profunda sobre los mecanismos de acción tóxica que la obtenida in vivo. (23)

Son preferentemente utilizados porque son más económicos, requieren mucho menos cantidad de material y las condiciones experimentales son más controlables (23).

1.7 EVALUACIÓN.

La evaluación de la actividad antiinflamatoria utiliza métodos experimentales “In Vivo”, para lo cual se produce la inflamación con agente externo como es la Carragenina en solución inyectada en la región subplantar de la pata de la rata, se determina el volumen de inflamación en tiempos específicos al inicio de la administración de un extracto vegetal administrado en forma oral y se evalúa el efecto de los metabolitos secundarios presentes en el vegetal estudiado (25)

Se cuenta con el estudio de la actividad antifúngica de la familia Melastomataceae; *Miconia reducens* Triana el extracto etanólico inhibe en forma total el crecimiento bacteriano de *Stafilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Speudomonas aeruginosa*, *Salmonella tiphy*. (27).

Miconia coronata β - Sitosterol, ácido elágico, un flavonoide llamado kaemferol -7-O-4- α,β - (presentando actividad antibacterial), y una isoflavona diglicosilada 10 en el extracto, propanol-agua, (65:35); y actividad anti fúngica del extracto en fase acuosa al 5% contra *Candida albicans*.(25)

1.8 RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL

La recolección de una determinada especie hacerse con la ayuda de un botánico quien además de clasificar el material guardara una muestra testigo para futuras comprobaciones. (25)

1.9 PRUEBAS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

Una inflamación representa un proceso fisiológico fundamental para eliminar estímulos lesivos aun organismo vivo. Una característica marcada de este proceso o de carácter independiente de la naturaleza del estímulo, sea físico, químico o biológico donde se observan edema, aumento de la temperatura, eritema en el área.(28)

Varios modelos In Vivo son utilizados en la investigación de compuestos con actividad analgésica / antiinflamatoria (Waker e cols, 1999). En general una estereotipia del género de 2 procesos y síntomas de inflamación sirven de base para el ensayo de estas drogas. Dentro de los parámetros normalmente validados están el edema, alteración de la permeabilidad vascular, migración leucocitaria, fiebre y dolor. (28)

Estas pruebas de caracterización farmacológica sirven para el análisis de nuevos compuestos capaces de inferir con el curso de la inflamación. (28)

1.10 EXAMEN QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS.

Se ha desarrollado una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en los vegetales, basados en la extracción de estos solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración.

Las pruebas más comunes son:

A.- ENSAYO DE DRAGENDORFF

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

B.- ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2 - 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- 1-Rosado-azul muy rápido.
- 2-Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro-negro- final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

NOTA: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente. La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

C.- ENSAYO DE BORNTTRAGER

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en

reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

D.-ENSAYO DE BALJET

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

E.- ENSAYO DE CATEQUINAS

Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.

F.-ENSAYO DE LA ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal comotriterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de aguadestilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

G.-ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos.

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

H.-ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

I.-ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL de extracto etanólico 10 min con 1 mL de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo (8).

1.11 PREPARACION DE LOS SUBEXTRACTOS.

La maceración contiene numerosos compuestos de difícil purificación, razón fundamental para preparar subextractos por extracción con solventes inmiscibles, después de basificar la solución y liberar los alcaloides de sus sales.

Para la obtención de los subextractos se elige solvente para este caso; con el fin de extraer los flavonoides y terpenos presentes en los vegetales siendo el más favorable para la extracción el cloroformo.

De la solución alcohólica se coge una alícuota de 25 mL se coloca en un embudo de separación y se añade un volumen igual de cloroformo, se agita por varios minutos, se deja reposar, y se repite el proceso hasta cuando la fase clorofórmica este transparente, Se trasvasa esta fase a un balón esmerilado previamente pesado y concentrar el subextracto.

Para reconstituir el extracto y alcanzar el volumen requerido para la aplicación en ratas se tiene que preparar una emulsión (liquida – liquida) formada por agua subextracto y alcohol para luego evaporar el alcohol.

1.11.1 SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICO

- A la solución alcohólica concentrar, pasar a un embudo de separación.
- Añadir un volumen igual de cloroformo agitar por varios minutos dejar en reposo.
- Separar la solución alcohólica (fase superior) de la solución clorofórmica (fase inferior) repetir el proceso hasta tener incolora la fase clorofórmica repetir cuantas veces sean necesarias.
- A la solución clorofórmica recoger en un balón esmerilado pesado y llevar a sequedad a presión reducida, pesar.(8)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica, Facultad de Ciencias. Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, del 17 de Febrero Marzo- al 31 de Abril del 2013.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL VEGETAL E IDENTIFICACION TAXONOMICA.

Como materia prima se utilizó las hojas, tallos, y frutos de *Miconia*, *Brachyotum* y *Fuchsia*; Los que fueron identificados en el herbario de la ESPOCH, por el curador Ing. Jorge Caranqui, respectivamente:

Nombre común: Colca

Orden: Myrtales

Familia: Melastomataceae

Género: *Miconia*

Especie: *pseudocentrophora*

Nombre común: Llumbre

Orden: Myrtales

Familia: Melastomataceae

Género: *Brachyotum*

Especie: *ledifolium*

Nombre común: Arete de inca

Orden: Myrtales

Familia: Onagraceae

Género: Fuhsia

Especie: loxensis

La misma que se recolectó en el mes Febrero del 2013 en San Francisco de Guayllabamba del Cantón Chambo - Provincia de Chimborazo.

2.3 MATERIAL BIOLÓGICO.



Ratas (*Rattus norvegicus*) del Bioterio de la Facultad de Ciencias Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Fotografía No. 4 RattusNovergicus.

2.4 MATERIALES DE LABORATORIO

- ✓ Probeta
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Algodón
- ✓ Caja de guantes y mascarillas
- ✓ Jeringas
- ✓ Cánulas.
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Balones aforados
- ✓ Cápsulas de porcelana
- ✓ Crisoles
- ✓ Embudo simple
- ✓ Reverbero eléctrico
- ✓ Pinza para tubo
- ✓ Pinza para cápsula
- ✓ Equipo de reflujo
- ✓ Matraces Erlenmeyer
- ✓ Pipetas
- ✓ Pipetas Volumétricas
- ✓ Gradilla
- ✓ Varilla de agitación

- ✓ Trípode

- ✓ Papel filtro

2.4 EQUIPOS

- ✓ Balanza Analítica
- ✓ Cámara UV
- ✓ Rotavapor
- ✓ Estufa
- ✓ Refractómetro
- ✓ Bomba de vacío

- ✓ Cabina extractora de gases
- ✓ Computadora
- ✓ Mufla
- ✓ Estufa
- ✓ pH – metro
- ✓ Espectrofotómetro UV - Visible

2.5 REACTIVOS

- ✓ Agua destilada
- ✓ Reactivo de Dragendorff
- ✓ Reactivo de Mayer
- ✓ Reactivo de Wagner
- ✓ Reactivo de Lieberman –
Buchard
- ✓ Reactivo de Bornträger
- ✓ Reactivo de Baljet
- ✓ Reactivo de Sudan III
- ✓ Solución de Cloruro Férrico al
5%
- ✓ Solución de Ninhidrina al 5%
- ✓ Solución de Fehling A y B

- ✓ Cloroformo
- ✓ Cloruro de Sodio
- ✓ Hidróxido de Sodio
- ✓ Ácido Clorhídrico 1%
- ✓ Ácido Clorhídrico concentrado
- ✓ Granallas de Magnesio Metálico
- ✓ Acetato de Etilo
- ✓ Metanol
- ✓ Ácido Sulfúrico concentrado
- ✓ Vainillina
- ✓ Formol
- ✓ Etanol

2.6 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.6.1 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL

Para realizar el control de calidad de la parte aérea de *Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*. La materia prima fue obtenida en el mes de Marzo del 2013 en San Francisco de Guayllabamba del Cantón Chambo - Provincia de

Chimborazo, se consideró múltiples parámetros encargados para asegurar la calidad de los vegetales en el que se incluyen las siguientes determinaciones

2.6.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestre una droga después de ser desecada en la estufa. Para una buena conservación debe ser inferior al 10%, para evitar procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

2.6.2.1 MÉTODO GRAVIMÉTRICO

Se pesó 2 g. \pm 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a un pesa filtro previamente tarado y se secó a 100°C durante 3 horas. El pesa filtro se puso en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante.

Cálculos:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

Dónde:

%H = Porcentaje de Humedad

M₂= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

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

M = masa de la cápsula vacía

100 = factor matemático

2.6.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor

del 5%. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica.

2.6.3.1 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica.

Se determina la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calienta carboniza la porción de ensayo y posteriormente se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta obtener masa constante. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Cálculos:

$$\%Ct = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Dónde:

C_t: porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M= masa crisol vacío (g)

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

M₂= masa del crisol con la ceniza (g)

2.7PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE PARTE AEREA DE *Miconia pseudocentrophora, Brachyotum ledifolium, Fuchsia loxensis.*

Después de la recolección e identificación de los vegetales se procede a limpiar y desinfectar; se lava en abundante agua, se elimina el exceso de agua y se corta en trozos pequeños para luego proceder a triturar, colocar en un recipiente de vidrio de boca ancha se agrega etanol (96°) GL; luego se deja macerar por 2 a 3 días. Se decanta y el filtrado

se concentra una octava parte del volumen inicial, en el mejor de los casos por presión reducida; se refrigera para eliminar las clorofilas obteniendo así el extracto alcohólico.

2.7.1 PREPARACION DE LOS SUBEXTRACTOS DE LA PARTE AEREA DE *Miconia pseudocentrophora, Brachyotum ledifolium, Fuchsia loxensis.*

Para la obtención de los subextractos se elige solvente inmiscible con el etanol; en el presente caso el cloroformo con el fin de extraer los metabolitos secundarios en el.

Del extracto alcohólico se coge una alícuota de 25 mL y coloca en un embudo de separación luego añade un volumen igual de cloroformo, se agita por varios minutos, se deja reposar, una vez formadas dos fases separar la fase superior corresponde al extracto etanólico, y la fase inferior al cloroformo que debe recogerse en un recipiente previamente tarado. Se repite el proceso desde la adición clorofórmica, hasta que este transparente. Todas las fases cloroformicas reunidas en balón esmerilado previamente pesado eliminar el solvente y constituyen el subextracto.

Para reconstituir el extracto y alcanzar el volumen requerido para la aplicación en ratas se tiene que preparar una emulsión (liquida – liquida) formada por agua subextracto y alcohol para luego evaporar el alcohol.

2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO.

Se realiza previamente; el vegetal debe estar libre de impurezas, sano, para que no existan interferencias durante el análisis.

2.3.3.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

- **Olor:** Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina la característica del producto.

- **Color:** Se toma un tubo de ensayo limpio y seco y se llena las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, transparencia, presencia de partículas y la separación en capas.
- **Sabor:** colocar una pequeña cantidad de muestra en el borde de la palma de la mano o en el dedo índice e inmediatamente Al contacto con la punta de la lengua se realiza la identificación de su sabor.
- **Aspecto:** Se determina observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra.

2.3.3.2 DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Para realizar la determinación se toma una alícuota de 25 mL, de la muestra y procedemos a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado.

2.3.3.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

- En un refractómetro de Abbe, se realiza la medición calibrando el equipo con agua destilada.
- Se levanta la tapa del refractómetro y se limpia con papel filtro.
- Colocar una o dos gotas de la muestra a analizar (extracto)
- Anotar los resultados

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$n_d^{25} = n_d^t + 0.00044 (T - 25)$$

Dónde:

n_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

n_d^t = Valor leído en la escala del aparato a temperatura

0.00044 y 25 = Factor de corrección matemática

T = temperatura a la que se realiza la lectura

2.3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. Para realizar la determinación, se debe pesar el picnómetro vacío y seco a 2 °C y llenar con la porción de ensayo, mantener a la temperatura de 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajustar el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro. Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

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

Dónde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso del picnómetro vacío (g)

2.3.4.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico constituye una de las etapas que nos ayuda a determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en las plantas.

2.3.4.1 Ensayo de Dragendorff

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

2.3.4.2 Ensayo de Mayer

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, los resultados se clasifican de la misma forma.

2.3.4.3 Ensayo de Wagner

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.

2.3.4.4 Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónicos, sesquiterpenolactonas, Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de

alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de una coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

2.3.4.5 Ensayo del cloruro férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos.

A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

1. Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
2. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
3. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos. (33)

2.3.4.6 Ensayo de la espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esferoidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.3.4.7 Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos,

se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

2.3.4.8 Ensayo de principios amargos El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar.

2.3.5 PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA.

Es conocido que el proceso inflamatorio puede ser producido por un conjunto de mediadores actuando independientemente y en forma sinérgica, ocurriendo que un mismo mediador puede ser activo en las diferentes etapas de respuesta inflamatoria. (1)

Los biomodelos para la investigación de la actividad antiinflamatoria tienen como base para el ensayo los síntomas de la inflamación, siendo el más frecuentemente utilizado el edema. En estos modelos, la mayoría de veces solamente nos permite llegar a determinar la actividad más no el mecanismo implicado en el proceso antiinflamatorio que presenta el extracto de la planta investigada, pero son de gran importancia ya que nos permiten hacer un evaluación de esta actividad y puede ser el punto de partida para la investigación de nuevos compuestos capaces de interferir en el proceso inflamatorio. (1)

La técnica utilizada para evaluar la actividad antiinflamatoria fue la del edema de pata en rata, inducido por carragenina (Método de Wintter y col.). (1) (2)

El método de edema plantar inducido por cartagenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc. (3)(4)

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. De una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2).(3)(4).

La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente. (4)

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad anti-inflamatoria en clínica. (4)

Se utilizaron grupos de 3 ratas por cada formulación. Se midieron los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas con una cinta métrica. Las formulaciones a ensayar se administraron por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua destilada. El grupo control recibió solamente el vehículo y otro grupo una dosis del agente antiinflamatorio (Fármaco de referencia) Naproxeno sódico 550mg (7.86 mg/Kg).

Media hora después de la administración de las sustancias de ensayo, se indujo el edema inyectando 0,1mL de una disolución acuosa al 0,5% de carragenina en la aponeurosis plantar derecha de las ratas. La medida del volumen de la pata derecha inflamada se realizó con una cinta métrica (largo y diámetro). La inflamación se cuantificó midiendo el volumen de las patas a las 0, 1, 3, 5, 7, y 8, horas después de la inyección de carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación.

Se calculó el volumen de inflamación producido, con la siguiente fórmula:

$$VI = \frac{\pi}{4} d^2 h$$

Dónde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

Los resultados se determinaron como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DE INFLAMACION} = \frac{V \text{ C. positivo} - \text{Volunen normal}}{V \text{ normal}} \times 100$$

Dónde:

V control positivo = volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V normal = volumen normal (antes de la aplicación de Cartagenina).

Nota: Las ratas se encontraban en un estado de salud óptimo y en ayuno de 12 horas. Previo a un periodo de adaptación de siete días.

El porcentaje de Inhibición de la reacción inflamatoria de la Carragenina, se calcula en la fase aguda a las 1, 3, 5, 7, y 8 horas de la inyección de la misma.

$$\% \text{ de inhibicion de la fase aguda} = \frac{v. c. problema - V. c. positivo}{volumen c. problema} \times 100$$

Dónde:

V control problema = volumen de la pata inflamada sin antiinflamatorio

V control positivo = volumen de la pata inflamada con antiinflamatorio

V normal = volumen normal (antes de la aplicación de Cartagenina).

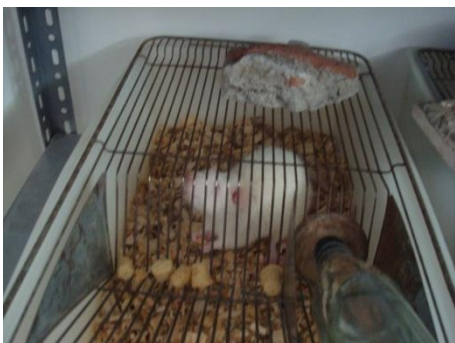
2.3.6 ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

Se emplearon 20 animales de experimentación (13 hembras, 7 machos) Aplicando el principio de las 3R (reducción, refinamiento y reemplazo), se utilizan 15 animales de

experimentación para la primera ronda de administración y se realizaron 3 repeticiones por lote (extracto alcohólico: L1,L2,L3);(subextracto cloroformico:Ls1,Ls2,Ls3) para verificar la reproducibilidad y se valide la investigación.

Procedimiento:

FASE 1: ACLIMATACIÓN



Aislamiento de las ratas (machos y hembras) una semana previo a la experimentación.

Peso de las ratas: 180-200g.

Edad: Dos meses

Temperatura: 18°C

Comida: 3g de pellets/100g peso de la rata; agua ad libitum

Fotografía No. 5 ACLIMATACIÓN

FASE 2: DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS



Grupo blanco: 3 ratas

Grupo negativo (Naproxeno 7.86mg/Kg + Carragenina): 3 ratas

Grupo positivo (carragenina): 3 ratas

Fotografía No. 6 **GRUPOS**

Grupos experimentales: 18 ratas, divididas en grupos de 3 para cada dosis del extracto y subextracto de cada vegetal en este caso son: Miconia, Fuchsia, Brachiotum. Medir de cada grupo los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas con una cinta métrica. El grupo control recibió solamente el vehículo (agua ad libitum).

FASE 3: INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR



Carragenina 0,5mL en la región subplantar de las dos patas posteriores, es inyectada 30 min. después de la administración intragástrica de la sustancia a estudiar; un lote de tres animales sirve de control y recibe el líquido fisiológico, para cada dosis de sustancia, las concentraciones de las soluciones o suspensiones utilizadas deberán administrarse según cada fármaco llevándose a 5mL. con agua.

Fotografía No. 7 **Inducción edema**



Dosis: A partir del octavo día de experimentación administramos 0,1 mL de una disolución acuosa de carragenina 0,5% por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar derecha, posteriormente se mide el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.

Fotografía No. 8 Inducción con Carragenina

Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 1, 3, 5, 7,8 horas después de la inyección de Carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de Carragenina es indicativa del grado de inflamación.

FASE 4: TRATAMIENTO



Control Negativo:

osis: Administrar 1 mL de solución de naproxeno de 550mg en agua a una concentración 7,86mg/kg por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. Media hora después administramos 0,1 mL de carragenina 0,5%.

Fotografía No. 9 **TRATAMIENTO**

Posteriormente se mide el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.

Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 0, 1, 3, 5, 7, 8 horas.

FASE 5: GRUPOS EXPERIMENTALES.

Dosis: Administrar 0.1 ml de extracto y subextracto de la Miconia, Brachiotum, Fuchsia



a concentraciones del 100%. Por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua destilada. Media hora después administramos 0,1 mL de carragenina 0,5%. Medir el volumen de la pata desde el inicio hasta el final de la investigación.

Fotografía No. 10 Medida edema.

Intervalos: Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 1, 3, 5, 7, 8 horas.

2.3.7 MODELO EXPERIMENTAL

Cuadro No. 1 ESQUEMA DE ENSAYO UTILIZADO PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE 3 TRATAMIENTOS.

Extracto alcohólico				Extracto clorofórmico			
Repeticiones							
Tratamientos	R1	R2	R3	Ts	R1	R2	R3
T1				Ts1			
T2				Ts2			
T3				Ts3			

DONDE:

T1= Extracto alcohólico.

Ts =subextracto Clorofórmico.

Medicamento de Referencia Naproxeno sodico 7.86mg/Kg Grupo Control

Carragenina 0,5%

Al extracto alcohólico de cada uno de los vegetales en estudio se le evaporó el etanol hasta eliminarlo para evitar gastritis en las ratas, y se les administró en dosis de 1mL de extracto alcohólico de cada uno de los vegetales y subextractos clorofórmicos, para comprobar la actividad antiinflamatoria en ratas (*Rattus norvegicus*) con edema plantar inducido con carragenina 0,5%.

El Naproxeno sódico 550mg fue administrado en dosis (7,86mg/Kg), utilizada como droga control positivo para reducir la inflamación provocada por carragenina 0,5%. Mientras que el grupo control negativo recibió cada uno de los tratamientos (extractos y subextractos). El volumen del edema plantar de la rata se evaluó al inicio de la investigación y al término de la misma para esto se toma en cuenta tanto el diámetro como el largo de la pata derecha, con el fin de conocer de qué manera actúa el extracto administrado.

Las mediciones se realizaron a las 1, 3, 5, 7, 8, horas después de la inyección de la carragenina, posteriormente se calcula el volumen de cada medición y se realiza un promedio de las tres mediciones.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la presente investigación se identificó su taxonomía de acuerdo a su familia, genero, y especie. A través de métodos cualitativos y cuantitativos identificamos la presencia de compuestos fitoquímico y su actividad antiinflamatoria en un sistema biológico complejo, los resultados presentados en seis lotes por triplicado, obteniendo el promedio para poder realizar una valoración estadística sustentable se analizaran los distintos extractos experimentales en relación a un estándar de acción antiinflamatoria conocida para poder establecer la actividad resultante del presente análisis.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA

Para realizar el control de calidad se utilizó hojas, tallos, y frutos de *Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis* con muestras por triplicado para cada prueba, con lo que se obtuvo los siguientes resultados:

3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Los vegetales contienen agua cuando están frescos. Es necesario conocer cuál es la cantidad, de la misma; si se quiere guardar: en este caso el alcohol que se utilizó al 96° GL, que hace que por su fenómeno de osmosis se mantengan inalterados los metabolitos existentes.

3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Este parámetro de control de calidad da el porcentaje de minerales presentes en las plantas, sirve para establecer el grado de limpieza de materias primas vegetales, son una

medida de la materia arenosa proveniente de la cosecha de las especies vegetales. Cuando hay un alto contenido de cenizas, superior a la especificación se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico.

Cuadro No. 2 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS VEGETALES.

PARAMETRO	ESPECIFICACIÓN	LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>)	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>)	COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>)
% HUMEDAD		49.49	79.48	48.90
% CENIZAS	Hasta 12 %	4.07	3.70	2.91

En el cuadro No. 2 se puede apreciar el porcentaje de humedad de la planta fresca; en el cual se obtuvo un valor de 79.48% para el Arete de Inca (*Fuchsia loxensis*), 49.49% para el Llumbre (*Brachyotum ledifolium*) y 48.90 % para la Colca (*Miconia pseudocentrophora*) valores que reflejan la cantidad de agua libre que contiene el material vegetal que es alta. Las plantas recién recolectadas contienen una cantidad de agua importante, variable en los distintos órganos. Las semillas y frutos secos contienen el porcentaje menor, 5 a 10%, pero las cortezas contienen del 30 al 40% de agua, las hojas del 60 al 90%, según su textura, las raíces y rizomas del 70 al 85% y las flores y frutos del 80 al 90%. Las especificaciones nos ayudan en la preparación de alcoholatos y la extracción de aceites esenciales. (19)

Por lo tanto el contenido de humedad es mayor para el Arete de Inca, ya que la zona donde fue recolectado el material vegetal mantiene alta humedad, con presencia de neblina, otra de las causas puede ser que se trata de un arbusto poco leñoso, por lo que retiene mayor cantidad de agua.

En el Cuadro además se puede apreciar el porcentaje de Cenizas de las especies en estudio. Las cenizas totales en la planta fresca son de 4.07 % para el Llumbre (*Brachyotum ledifolium*); 3.70 % para el Arete de Inca (*Fuchsia loxensis*) lo que puede ser debido a las raíces gruesas y profundas que presenta y que absorbe mayor cantidad de compuestos orgánicos. Para la Colca (*Miconia pseudocentrophora*), de 2.91%, el valor correspondería a que este vegetal se encuentra entre materiales térreos poco subterráneos.

En el análisis que se realizó puede considerarse que los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos, ya que para las plantas medicinales de uso tradicional, generalmente el contenido de cenizas se encuentra hasta el 12 %; si el valor sobrepasara esta especificación, debería ser rechazado el vegetal ya que podría haber una contaminación de la muestra con materiales térreos como: sales, arena, materiales pesados. (18)

PROCESO DE MACERACION.

El proceso de maceración realizado con cada uno de los vegetales triturados en etanol, dejando en contacto con el solvente durante 4 días, sin variación de temperatura y agitando ocasionalmente; lo que ayudó a las células vegetales mediante la presión osmótica a la lisis celular vertiendo todo su contenido en el alcohol, encontrándose en ellas las sustancias activas responsables de la actividad antiinflamatoria.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PARTE AEREA DE (*Miconia pseudocentrophora*), LLUMBRE (*Brachyotum ledifolium*), ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*)

El análisis de control de calidad se realizó en el extracto de hojas, tallos, y frutos de colca (*Miconia pseudocentrophora*), llumbre (*Brachyotum ledifolium*), arete de inca (*Fuchsia loxensis*) obtenido por maceración con etanol (96°), que forma mezcla azeotrópica, con el agua del vegetal, lo que facilita la eliminación del etanol.

Se eligió este solvente por la polaridad que tiene el etanol, por no ser tóxico y porque puede ser fácilmente eliminado, ya que puede administrarse por vía oral.

La extracción de los principios activos se da por la diferencia de presión osmótica en la célula vegetal ya que entre los compartimentos de los fluidos intracelulares y extracelulares existentes se llena del contenido del solvente de extracción (etanol), hasta producirse la lisis celular, vertiendo todo su contenido al solvente, de manera que una parte de esta será los principios activos responsables de la actividad antiinflamatoria.

3.2.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

Cuadro No. 3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICAS DE LOS VEGETALES.

PARAMETRO	RESULTADOS		
	LLUMBREL(<i>Brachyotum</i>)	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>)	COLCA (<i>Miconia Colca</i> (<i>Miconia pseudocentrophora</i>))
Peso de la muestra	2000g	2000g	2000g
Rendimiento	78,6%	89,2%	97,5%
Aspecto	Líquido	Líquido	Líquido
Consistencia	Transparente	Ligeramente turbio	Turbio
Color	Verde amarillento	Café amarillento	Marrón
Olor	Herbal fuerte	Característico	Endulzante
Sabor	Ligeramente dulce	Dulce	Amargo

Ph	4.18	3.77	3.60
Índice de refracción	1.355	1.358	1.363
Densidad relativa	0.91 g/ml	0.75 g/ml	0.97 g/ml
Rendimiento de los subextractos	3.5%	1.8%	1%

COLCA (Miconia)

El porcentaje de rendimiento del extracto concentrado es de 97.5%, este valor puede variar por el método utilizado para la recuperación del solvente (rotavapor). En este caso se utilizó el método de destilación directa, también influye la relación entre el vegetal con el Etanol al 70% que aumenta de acuerdo al tiempo de maceración.

Las características organolépticas del extracto etanólico, se observó que era líquido en su aspecto, de color marrón, sabor amargo del vegetal joven (que repele la presencia de insectos, aves; presencia de compuestos fenólicos, como los taninos que son compuestos propios de los vegetales que funcionan como autodefensa)y olor endulzante que atrae a las mariposas y abejas que polinizan el lugar, disponiéndose arbustos coposos a lo largo de la zona donde se extrajo el vegetal.

El pH expresa la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias. En el extracto etanólico del vegetal pH es de 3.60. Sugiere, la presencia de compuestos con OH presentes son con características ácidas (fenoles, taninos, flavonoides, entre otros), en comparación con el pH del agua que es 7. (26)

Comparándolo con la densidad del solvente empleado en la preparación de la misma (etanol), siendo de 0.97 g/ml; se observa que es mayor. Este valor es indicativo de que en el extracto existen sustancias en disolución. (27)

El índice de refracción es de 1.363 este valor nos indica la presencia de sustancias disueltas, ya que al compararlo con el del agua el índice de refracción es de 1,333,

podemos observar que es ligeramente mayor; la pureza del extracto denota el valor reportado en comparación con la densidad del agua. (27)

LLUMBRE (Brachyotum)

El porcentaje de rendimiento del extracto concentrado es de 78.6% el valor nos indica que se trata de un arbusto leñoso con raíces poco profundas, con menor absorción de agua.

Las características organolépticas del extracto etanólico, se observó que era líquido en su aspecto, de color verde amarillento, sabor ligeramente dulce, lo que puede deberse a la presencia de azúcares como glucosa en el vegetal y olor herbal fuerte.

El pH expresa la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. En el extracto etanólico del vegetal pH es de 4.18. Sugiere, que los compuestos químicos presentes son con características ácidas débiles. (24,26) Comparándolo con la densidad del solvente empleado en la preparación de la misma (etanol), siendo de 0.91 g/ml; Este valor es indicativo de que en el extracto existen sustancias en disolución, responsables de la actividad.

El índice de refracción es de 1.355 este valor nos indica la presencia de sustancias disueltas, en el extracto, el extracto posiblemente es menos viscoso.

ARETE DE INCA (Fuchsia)

El porcentaje de rendimiento del extracto concentrado es de 89.2%, la humedad contenida se encuentra en hojas, flores y frutos, el resto de la planta es leñosa y al proceder con la extracción del vegetal el extracto se obtiene un rendimiento considerado como óptimo.

Las características organolépticas del extracto etanólico, se observó que era líquido en su aspecto, de color café amarillento, sabor dulce posible (ésteres de glucosa), lo que puede deberse a la presencia de azúcares como glucosa en el vegetal y olor característico. El pH expresa la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. En el extracto etanólico del vegetal pH es de 4.18. Sugiere, que los

compuestos químicos presentes son con características ácidas débiles (fenoles, taninos, flavonoides, entre otros). (24,26)

Comparándolo con la densidad del solvente empleado en la preparación de la misma (etanol), siendo de 0.91 g/ml; este valor es indicativo de que en el extracto existen sustancias en disolución.

El índice de refracción es de 1.355 este valor nos indica la presencia de sustancias disueltas, pues al compararlo con el del agua (1,333), podemos observar que es mayor.

En cuanto a los subextractos el lavado con cloroformo hace que se forme una emulsión, se rompa esta, y se tome la fase clorofórmica, la que se separa, tomando un color más claro, y que se tenga un menor rendimiento por lo que se parte de una mínima cantidad de extracto etanólico (25mL). Se debe indicar que los parámetros de calidad del extracto no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de cada especie.

3.2.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico ayuda a determinar cualitativamente la presencia de los principales metabolitos secundarios, se utilizaron pruebas cualitativas mediante formación de precipitados o cambios de coloración en la muestra de ensayo.

Cuadro No. 4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE COLCA (*Miconia pseudocentrophora*).

Ensayo	Metabolito	Especificación	Resultados
FeCl ₃	Compuestos fenólicos y/o taninos	Coloración rojo-vino (compuestos fenólicos en general). Coloración verde intensa (taninos del tipo pirocatecólicos). Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos).	-Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos)
Shinoda	Flavonoides	Coloración, amarillo, naranja, carmelita o rojo intensos en todos los casos	Carmelita (++)
Dragendorff	Alcaloides	Opalescencia (+) Turbidez(++) Precipitado (+++)	Precipitado(+++)
Baljet	Compuestos con agrupamiento Lactónico	Coloración rojo (++) precipitado rojo(+++)	Café amarillento(-)

	(cumarinas)		
Borntrager	Quinonas	Coloración rosada(++) Coloración rojo(+++)	Coloración rojo(+++)
Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides y/o	Rosado-azul Verde intenso-visible Verde oscuro-negro-final	Coloración. Verde oscuro-negro-final (++)
Saponinas	Triterpenos esteroides y/o	Espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.(+)	Persistente por 3 minutos(++)
Fehling	Azucares reductores	Solución de color rojo o aparece precipitado rojo	Color rojo(+)

+++ : ALTA EVIDENCIA

++ : EVIDENCIA

+ : BAJA EVIDENCIA

- : NEGATIVO

En la Investigación fitoquímica de la **Melastomataceae** pertenecientes a la familia *Miconia* se indica la presencia de taninos, flavonoides y cumarinas ; las que en bibliografía se ha corroborado la presencia de estos grupos tales como triterpenos, flavanonas, quinonas y cumarinas, en general y que dan actividades biológicas tales como antibiótica, antitumoral, analgésica y antimalarial, saponinas y taninos son los marcadores representativos de COLCA (*Miconiapseudocentrophora*). (20)

Cuadro No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE LUMBRE (*Brachyotum ledifolium*).

Ensayo	Metabolito	Especificación	Resultados
FeCl₃	Compuestos fenólicos y/o taninos	Coloración rojo-vino (compuestos fenólicos en general). Coloración verde intensa (taninos del tipo pirocatecólicos). Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos).	-Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos)
Shinoda	Flavonoides	Coloración, amarillo, naranja, carmelita o rojo intensos en todos los casos	Carmelita (++)
Dragendorff	Alcaloides	Opalescencia (+) Turbidez(++) Precipitado (+++)	Precipitado(+++)
Baljet	Compuestos con agrupamiento Lactónico (cumarinas)	Coloración rojo (++) precipitado rojo(+++)	Pardo rojizo (-)
Borntrager	Quinonas	Coloración rosada(++) Coloración rojo(+++)	Coloración rojo(+++)

Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides y/o	Rosado-azul Verde intenso-visible Verde oscuro-negro-final	Coloración. Verde oscuro-negro-final (++)
Saponinas	Triterpenos esteroides y/o	Espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.(+)	Persistente por 3 minutos(++)
Fehling	Azucares reductores	Solución de color rojo o aparece precipitado rojo	Color rojo(+)

+++ : ALTA EVIDENCIA
 ++ : EVIDENCIA
 + : BAJA EVIDENCIA
 - : NEGATIVO

El resultado de la tabla nos indica que en el tamizaje fitoquímico nos da la presencia de taninos, flavonoides y cumarinas; las que en bibliografía se ha corroborado que la familia **Melastomataceae**, al cual pertenece el género **Brachyotum** presenta estos compuestos como triterpenos, flavanonas, quinonas y cumarinas, y que dan actividades biológicas tales como antibiótica, antitumoral, analgésica y antimalarial.(20)

Cuadro No. 6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*).

Ensayo	Metabolito	Especificación	Resultados
FeCl3	Compuestos fenólicos y/o taninos	Coloración rojo-vino (compuestos fenólicos en general). -Coloración verde intensa (taninos del tipo pirocatecólicos). -Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos).	-Coloración azul, (taninos del tipo pirogalotánicos)
Shinoda	Flavonoides	Coloración, amarillo, naranja, carmelita o rojo intensos en todos los casos	Carmelita (++)
Dragendorff	Alcaloides	Opalescencia (+) Turbidez(++) Precipitado (+++)	Precipitado(+++)
Baljet	Compuestos con agrupamiento Lactónico (cumarinas)	Coloración rojo (++) precipitado rojo(+++)	Precipitado rojo (+++)
Borntrager	Quinonas	Coloración rosada(++) Coloración rojo(+++)	Coloración rojo(+++)
Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides y/o	Rosado-azul Verde intenso-visible Verde oscuro-negro-final	Coloración. Verde oscuro-negro-final (++)

Saponinas	Triterpenos y/o esteroides	Espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.(+)	Persistente por 3 minutos)
Fehling	Azucares reductores	Solución de color rojo o aparece precipitado rojo	Color rojo(+)

+++ : ALTA EVIDENCIA
 ++ : EVIDENCIA
 + : BAJA EVIDENCIA
 - : NEGATIVO

En la tabla se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico de la familia Onagraceae genero fuschia los cuales dan positivo para flavonoides y cumarinas, alcaloides azucares, los que no pueden ser comparados en bibliografía por falta de estudios que indiquen la presencia de estos grupos a los que se responsabiliza propiedades antiinflamatorias y antiespasmódicas(19)

Se debe indicar que no existen datos que corroboren con lo reportado en el tamizaje fotoquímico.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANOLITOS Y SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS.

PROMEDIO DEL % DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN							
TIEMPO	NAPROXENO	COLCA		ARETE DE INCA		LLUMBRE	
		ETANÓLICO	CLOROFÓRMICO	ETANÓLICO	CLOROFÓRMICO	ETANÓLICO	CLOROFÓRMICO
1	38,23071	33,32676	34,00213	16,21766	33,32676	29,69647	34,99921
3	48,69033	50,96998	54,07295	43,59137	52,41159	39,27266	52,8595
5	38,96708	32,65436	44,98367	32,36688	42,19348	36,26559	41,1193
7	22,53468	11,05901	18,24786	2,47888	18,65381	16,12784	21,08918
8	5,2453	7,71059	7,19835	-23,56615	5,2453	1,19167	3,97331

Cuadro No. 7 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE LOS VEGETALES.

3.3.1 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTO ETANÓLICO Y SUBEXTRACTO CLOROFORMICO DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA.

Para realizar un análisis estadístico exhaustivo de la actividad antiinflamatoria de los distintos extractos obtenidos se efectuó ensayos en lotes de tres ratas teniendo como referencia un grupo control negativo y un grupo control positivo mismos que se analizaran a seis tiempos distintos (0, 1, 3, 5, 7, y 8 horas) en el proceso de inflamación.

Para poder realizar un análisis explicativo e identificar la eficacia de cada uno de los extractos ensayados se aplicara el test estadístico de Anova y su posterior comparación múltiple con el post hoc Tukey HSD al 95% Utilizando los datos presentados en el anexo N° 7, de esta manera se identificarán las principales diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Cuadro No. 8 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFORMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.

EXTRACTOS	PROMEDIO INHIBICIÓN
CONTROL - naproxeno	38.2333
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Extracto etanólico 100%	33.3333
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Subextracto cloroformico 100%	34.0000
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Extracto etanólico 100%	16.2333
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Subextracto cloroformico 100%	33.3333
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Extracto etanólico 100%	29.7000
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Subextracto cloroformico 100%	35.0000

Cuadro No. 9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Estadísticos para la variable ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 1 por EXTRACTOS

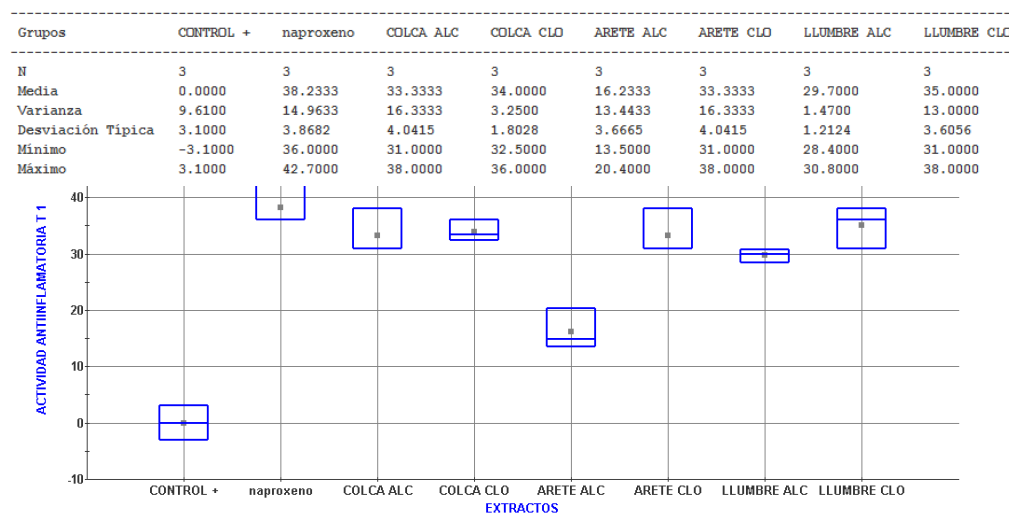


Gráfico No. 1 CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Al transcurrir una hora de haberse realizado el estudio se identifica claramente que todos los grupos presentan un porcentaje de inhibición de la inflamación similar alrededor del 33% el único extracto que tiene un desempeño relativamente menor es el extracto alcohólico de ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) con un porcentaje de inhibición del 16%.

Como se puede observar en el gráfico N° 1 el tamaño de las cajas correspondientes a cada grupo de estudio son pequeñas y no presentan puntos extremos fuera de las mismas con lo cual se establece que la centralización y reproducibilidad de los datos es muy buena respaldando los resultados finales del ensayo, este grafico es la esquematización de los valores de media y desviación típica en cada uno de los grupos de estudio.

Cuadro No. 10 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 1 HORA DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.

Anova Un Factor

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 1
 Variable Explicativa: EXTRACTOS
 Número de Casos: 24

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	3509.3529	7	501.3361	45.3681	0.0002E-5
Dentro Grupos	176.8067	16	11.0504		
Total (corr.)	3686.1596	23			

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 1
 Variable Explicativa: EXTRACTOS
 Número de Casos: 24

Método: Tukey HSD al 95.00%

EXTRACTOS	N	Media	Grupos Homogéneos
CONTROL +	3	0.0000	X
ARETE ALC	3	16.2333	X
LLUMBRE ALC	3	29.7000	X
COLCA ALC	3	33.3333	X
ARETE CLO	3	33.3333	X
COLCA CLO	3	34.0000	X
LLUMBRE CLO	3	35.0000	X
naproxeno	3	38.2333	X

El test de Anova se basa en la postulación de dos hipótesis la nula que expresa que no existe diferencia significativa entre los grupos de estudio en función de su actividad antiinflamatoria y la hipótesis alternativa que establece que al menos uno de los grupos de estudio presenta una diferencia estadísticamente significativa en función de la actividad antiinflamatoria.

Para aceptar o rechazar la hipótesis nula se toma la decisión en función del P- valor si este es menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que es lo que se busca en el presente estudio.

En el cuadro N° 10 se observa que el P – valor es de 0.0002 E-5 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa estableciendo que si existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio.

Al observar los resultados del post hoc Tukey HSD al 95% se identifica claramente que el grupo tratado con el extracto alcohólico ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) presenta un porcentaje menor de inhibición de la inflamación con respecto a los demás grupos de tratamiento que junto con el grupo de control de naproxeno establecen un solo grupo homogéneo con la misma actividad antiinflamatoria.

Cuadro No. 11 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

EXTRACTOS	PROMEDIO INHIBICIÓN
CONTROL - naproxeno	48.7000
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Extracto etanólico 100%	40.9667
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Subextracto clorofórmico 100%	54.0667
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Extracto etanólico 100%	43.6000
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Subextracto clorofórmico 100%	52.4000
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Extracto etanólico 100%	39.2667
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Subextracto clorofórmico 100%	52.8667

Cuadro No. 12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Estadísticos para la variable ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 3 por EXTRACTOS

Grupos	CONTROL +	naproxeno	COLCA ALC	COLCA CLO	ARETE ALC	ARETE CLO	LLUMBRE ALC	LLUMBRE CLO
N	3	3	3	3	3	3	3	3
Media	0.0000	48.7000	40.9667	54.0667	43.6000	52.4000	39.2667	52.8667
Varianza	8.1300	7.7700	488.1233	2.8033	3.8100	1.4700	4.6433	7.3633
Desviación Típica	2.8513	2.7875	22.0935	1.6743	1.9519	1.2124	2.1548	2.7135
Mínimo	-2.8000	45.6000	15.6000	53.1000	41.7000	51.0000	37.6000	51.3000
Máximo	2.9000	51.0000	56.0000	56.0000	45.6000	53.1000	41.7000	56.0000

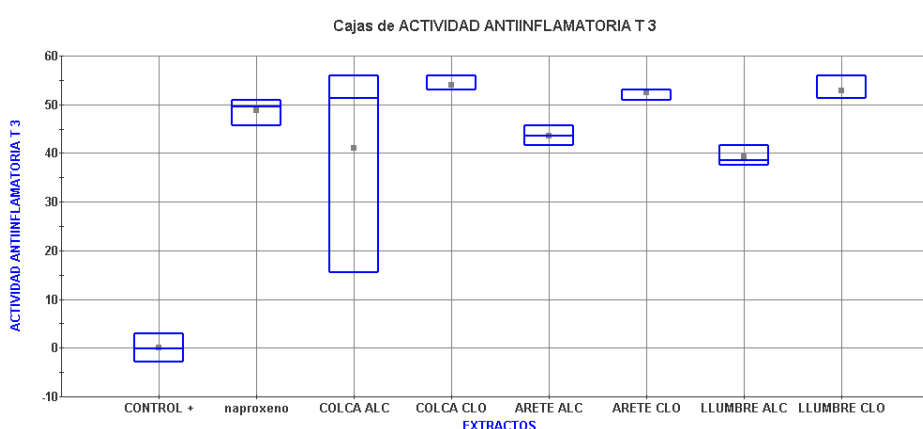


Gráfico No. 2 CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Al transcurrir tres horas de haberse realizado el estudio se identifica que los grupos presentan un porcentaje de inhibición de la inflamación similar alrededor del 48% a excepción del extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) y el extracto alcohólico de LLUMBRE (*Brachyotum ledifolium*) con un porcentaje de inhibición menor a los anteriores del 40% y 38% respectivamente.

Como se puede observar en el gráfico N°2 el tamaño de las cajas correspondientes a cada grupo de estudio son pequeñas y no presentan puntos extremos fuera de las mismas con lo cual se establece que la centralización y reproducibilidad de los datos es muy buena, respaldando los resultados finales del ensayo, la única caja que presenta una caja grande es la formada por el extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) debido

al tamaño de su desviación típica de 22.0935 más grande que la de los otros grupos este grafico es la esquematización de los valores de media y desviación típica en cada uno de los grupos de estudio.

Cuadro No. 13 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 3 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.ANOVA UN FACTOR.

Anova Un Factor					
Variable Respuesta:	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 3				
Variable Explicativa:	EXTRACTOS				
Número de Casos:	24				
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	6569.1067	7	938.4438	14.3243	0.0008E-2
Dentro Grupos	1048.2267	16	65.5142		
Total (corr.)	7617.3333	23			
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples					
Variable Respuesta:	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 3				
Variable Explicativa:	EXTRACTOS				
Número de Casos:	24				
Método: Tukey HSD al 95.00%					
EXTRACTOS	N	Media	Grupos Homogéneos		
CONTROL +	3	0.0000	X		
LLUMBRE ALC	3	39.2667	X		
COLCA ALC	3	40.9667	X		
ARETE ALC	3	43.6000	X		
naproxeno	3	48.7000	X		
ARETE CLO	3	52.4000	X		
LLUMBRE CLO	3	52.8667	X		
COLCA CLO	3	54.0667	X		

Transcurrido tres horas del estudio se obtiene en el test de Anova que el P - valor es de 0.0008E-2 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa estableciendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Al ensayar el post hoc de Tukey HSD al 95% se establece que a diferencia del grupo sin antiinflamatorio todos presentan una homogeneidad en su actividad antiinflamatoria con un porcentaje de inhibición del 48% esta homogeneidad es una expresión netamente estadística.

Cuadro No. 14 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

EXTRACTOS	PROMEDIO INHIBICIÓN
CONTROL - naproxeno	38.9667
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Extracto etanólico 100%	32.6667
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Subextracto clorofórmico 100%	44.9667
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Extracto etanólico 100%	32.3667
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Subextracto clorofórmico 100%	42.1667
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Extracto etanólico 100%	36.2333
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Subextracto clorofórmico 100%	40.8333

Cuadro No. 15 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Estadísticos para la variable ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 5 por EXTRACTOS

Grupos	CONTROL +	naproxeno	COLCA ALC	COLCA CLO	ARETE ALC	ARETE CLO	LLUMBRE ALC	LLUMBRE CLO
N	3	3	3	3	3	3	3	3
Media	0.0001E-12	38.9667	32.6667	44.9667	32.3667	42.1667	36.2333	40.8333
Varianza	12.6300	0.0533	62.4233	10.2633	26.4033	1.7633	6.4133	2.3433
Desviación Típica	3.5539	0.2309	7.9008	3.2036	5.1384	1.3279	2.5325	1.5308
Mínimo	-4.1000	38.7000	24.3000	41.4000	29.4000	41.4000	34.3000	39.1000
Máximo	2.2000	39.1000	40.0000	47.6000	38.3000	43.7000	39.1000	42.0000

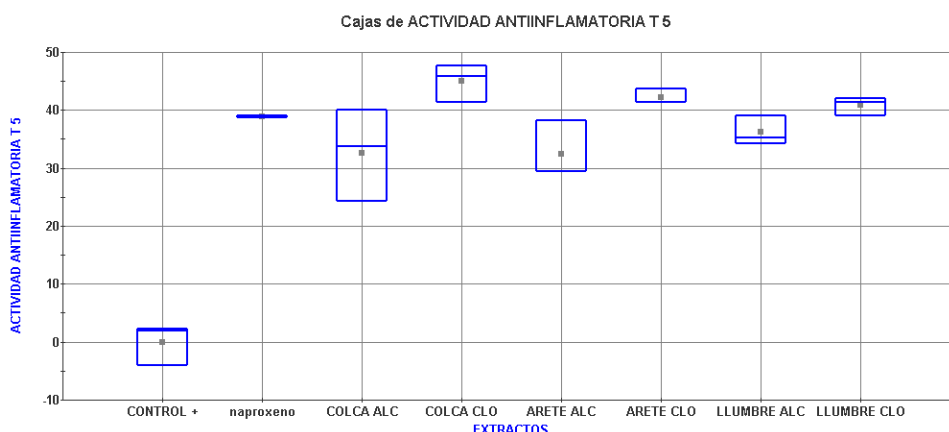


Gráfico No. 3CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Al transcurrir cinco horas de haberse realizado el estudio se identifica que los grupos presentan un porcentaje de inhibición de la inflamación similar alrededor del 38% a excepción del extracto clorofórmico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) con un porcentaje de inhibición mayor a los anteriores del 44.9667%

Como se puede observar en el gráfico N°3 el tamaño de las cajas correspondientes a cada grupo de estudio son pequeñas y no presentan puntos extremos fuera de las mismas a excepción del extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) que presenta una caja ligeramente más grande que los demás grupos de estudio es debido a su desviación típica de 7.9008 que es ligeramente mayor a los demás grupos pero la simetría de la caja establece un punto medio de análisis muy estable para el estudio por lo que no se ve significativamente alterado.

Cuadro No. 16ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 5 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.

Anova Un Factor

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 5
Variable Explicativa: EXTRACTOS
Número de Casos: 24

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	4265.8583	7	609.4083	39.8654	0.0006E-5
Dentro Grupos	244.5867	16	15.2867		
Total (corr.)	4510.4450	23			

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 5
 Variable Explicativa: EXTRACTOS
 Número de Casos: 24

Método: Tukey HSD al 95.00%

EXTRACTOS	N	Media	Grupos Homogéneos
CONTROL +	3	0.0001E-12	X
ARETE ALC	3	32.3667	X
COLCA ALC	3	32.6667	X
LLUMBRE ALC	3	36.2333	X X
naproxeno	3	38.9667	X X
LLUMBRE CLO	3	40.8333	X X
ARETE CLO	3	42.1667	X X
COLCA CLO	3	44.9667	X

Transcurrido cinco horas del estudio se obtiene en el test de Anova que el P - valor es de 0.0006E-5 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa estableciendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Al ensayar el post hoc de Tukey HSD al 95% se reconocen dos grupos de actividad antiinflamatoria uno formado por el extracto clorofórmico de COLCA (*Miconiapseudocentrophora*) con un porcentaje de inhibición mayor al resto de grupos que conforman un solo grupo homogéneo de actividad antiinflamatoria con un porcentaje de inhibición alrededor del 38%

Cuadro No. 17 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

EXTRACTOS	PROMEDIO INHIBICIÓN
CONTROL - naproxeno	22.5333
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Extracto etanólico 100%	11.0667
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Subextracto clorofórmico 100%	18.2667

ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Extracto etanólico 100%	2.5000
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Subextracto clorofórmico 100%	18.6667
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Extracto etanólico 100%	16.1333
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Subextracto clorofórmico 100%	21.0667

Cuadro No. 18 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Estadísticos para la variable ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 7 por EXTRACTOS

Grupos	CONTROL +	naproxeno	COLCA ALC	COLCA CLO	ARETE ALC	ARETE CLO	LLUMBRE ALC	LLUMBRE CLO
N	3	3	3	3	3	3	3	3
Media	0.0000	22.5333	11.0667	18.2667	2.5000	18.6667	16.1333	21.0667
Varianza	24.4900	10.0633	112.3733	21.5833	32.6700	26.6633	10.7033	2.6133
Desviación Típica	4.9487	3.1723	10.6006	4.6458	5.7158	5.1637	3.2716	1.6166
Mínimo	-4.5000	19.6000	-0.8000	13.1000	-0.8000	13.1000	13.1000	19.6000
Máximo	5.3000	25.9000	19.6000	22.1000	9.1000	23.3000	19.6000	22.8000

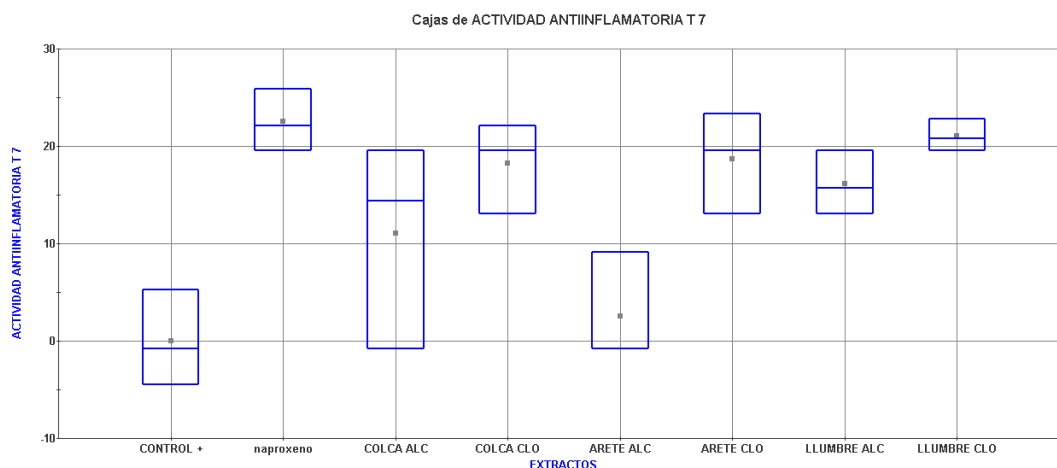


Gráfico No. 4 CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Al transcurrir siete horas de haberse realizado el estudio se identifica que los grupos presentan un descenso en su actividad antiinflamatoria en relación a los tiempos

anteriormente analizados es así que se observa que el extracto alcohólico de ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) presenta una inhibición de la inflamación de 2.5%, el extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) presenta una inhibición de la inflamación del 11.0667% y los demás grupos de análisis presentan un grupo homogéneo con un porcentaje de inhibición de la inflamación alrededor del 20%

Como se puede observar en el gráfico N°4 el tamaño de las cajas correspondientes a cada grupo de estudio son medianas y no presentan puntos extremos fuera de las mismas a excepción del extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) que presenta una caja ligeramente más grande que los demás grupos de estudio es debido a su desviación típica de 10.6006 que es ligeramente mayor a los demás grupos pero la simetría de las cajas establece un punto medio de análisis muy estable para el estudio por lo que no se ve significativamente alterado.

Cuadro No. 19 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 7 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS. ANOVA UN FACTOR.

Anova Un Factor					
Variable Respuesta:	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 7				
Variable Explicativa:	EXTRACTOS				
Número de Casos:	24				
	Suma de Cuadrados	G. L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	1511.2596	7	215.8942	7.1619	0.0006
Dentro Grupos	482.3200	16	30.1450		
Total (corr.)	1993.5796	23			
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples					
Variable Respuesta:	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 7				
Variable Explicativa:	EXTRACTOS				
Número de Casos:	24				
Método: Tukey HSD al 95.00%					
EXTRACTOS	N	Media	Grupos Homogéneos		
CONTROL +	3	0.0000	X		
ARETE ALC	3	2.5000	XX		
COLCA ALC	3	11.0667	XXX		
LLUMBRE ALC	3	16.1333	XX		
COLCA CLO	3	18.2667	X		
ARETE CLO	3	18.6667	X		
LLUMBRE CLO	3	21.0667	X		
naproxeno	3	22.5333	X		

Transcurrido siete horas del estudio se obtiene en el test de Anova que el P - valor es de 0.0006 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa estableciendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio.

Al ensayar el post hoc de Tukey HSD al 95% se reconoce que el extracto alcohólico de COLCA (*Miconia pseudocentrophora*) y extracto alcohólico de ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) son los que presentan menor actividad antiinflamatoria con un 11.0667% y 2.5% de inhibición de la inflamación dejando como grupo homogéneo de acción antiinflamatoria a los restantes grupos de estudio con un 20% promedio de acción de actividad antiinflamatoria.

Cuadro No. 20 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCA DESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

EXTRACTOS	PROMEDIO INHIBICIÓN
CONTROL - naproxeno	5.2667
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Extracto etanólico 100%	7.7333
COLCA (<i>Miconia pseudocentrophora</i>) Subextracto clorofórmico 100%	7.2333
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Extracto etanólico 100%	-23.5667
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) Subextracto clorofórmico 100%	5.2667
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Extracto etanólico 100%	1.2333
LLUMBRE (<i>Brachyotum ledifolium</i>) Subextracto clorofórmico 100%	3.9667

Cuadro No. 21 ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Estadísticos para la variable ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 8 por EXTRACTOS

Grupos	CONTROL +	naproxeno	COLCA ALC	COLCA CLO	ARETE ALC	ARETE CLO	LLUMBRE ALC	LLUMBRE CLO
N	3	3	3	3	3	3	3	3
Media	0.0000	5.2667	7.7333	7.2333	-23.5667	5.2667	1.2333	3.9667
Varianza	32.9700	15.0633	63.9033	69.2033	17.2433	15.0633	0.6533	4.0133
Desviación Típica	5.7420	3.8812	7.9940	8.3189	4.1525	3.8812	0.8083	2.0033
Mínimo	-6.4000	1.7000	1.7000	1.7000	-27.8000	1.7000	0.3000	1.7000
Máximo	4.7000	9.4000	16.8000	16.8000	-19.5000	9.4000	1.7000	5.5000

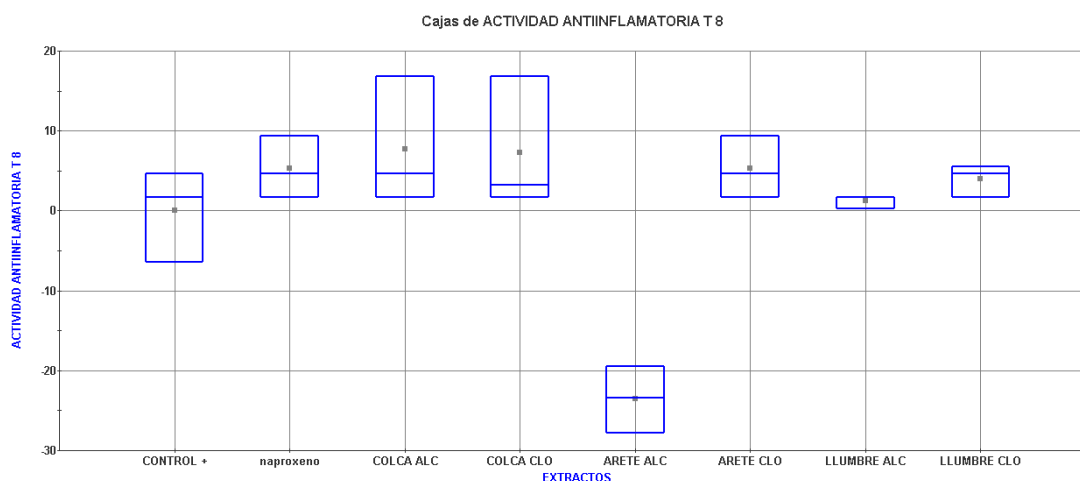


Gráfico No. 5 CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.

Al transcurrir ocho horas de haberse realizado el estudio se identifica que los grupos presentan un descenso en su actividad antiinflamatoria en relación a los tiempos anteriormente analizados es así que se observa que los grupos presentan un porcentaje en la actividad antiinflamatoria de entre el 3% y el 7% y el extracto alcohólico ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) presenta cero por ciento de actividad antiinflamatoria en este punto del análisis.

Como se puede observar en el gráfico N°5 el tamaño de las cajas correspondientes a cada grupo de estudio son medianas y no presentan puntos extremos fuera de las mismas por

otra parte en este punto del análisis el porcentaje de inhibición de la inflamación de todos los grupos es mínimo resultados no muy significativos.

Cuadro No. 22 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICOS DE COLCALLUMBRE, ARETE DE INCADESPUES DE 8 HORAS DE ADMINISTRACION EN RATAS.ANOVA UN FACTOR .

Anova Un Factor

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 8
 Variable Explicativa: EXTRACTOS
 Número de Casos: 24

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	2201.6517	7	314.5217	11.5361	0.0003E-1
Dentro Grupos	436.2267	16	27.2642		
Total (corr.)	2637.8783	23			

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Variable Respuesta: ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA T 8
 Variable Explicativa: EXTRACTOS
 Número de Casos: 24

Método: Tukey HSD al 95.00%

EXTRACTOS	N	Media	Grupos Homogéneos
ARETE ALC	3	-23.5667	X
CONTROL +	3	0.0000	X
LLUMBRE ALC	3	1.2333	X
LLUMBRE CLO	3	3.9667	X
naproxeno	3	5.2667	X
ARETE CLO	3	5.2667	X
COLCA CLO	3	7.2333	X
COLCA ALC	3	7.7333	X

A pesar de que el P- valor es de 0.0003E-1 y se puede establecer que existe diferencias significativas entre los grupos de estudio tal aseveración es respaldada tan solo por la aparición de un valor negativo correspondiente al extracto alcohólico de ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*) mismo que al ser descartado por su actividad antiinflamatoria nula y aplicado el post hoc de Tukey al 95% no se registra diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de interés al culminar el tiempo de estudio de la actividad antiinflamatoria.

Cuadro No. 23 VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE COLCA), LLUMBRE, ARETE DE INCA

VOLUMEN DE INFLAMACIÓN EXTRACTOS ETANÓLICOS					
TIEMPO	CARRAGENIA CONTROL (+)	NAPROXENO CONTROL (-)	COLCA	ARETE DE INCA	LLUMBRE
0	15,708	15,708	15,708	15,708	15,708
1	26,5486	16,3989	17,7008	22,2431	18,6646
3	37,3783	19,1787	18,3266	21,0846	22,6988
5	28,7773	17,5636	19,3803	19,463	18,3411
7	20,1534	15,6119	17,9247	19,6538	16,9031
8	15,9716	15,1339	14,7401	19,7355	15,7813

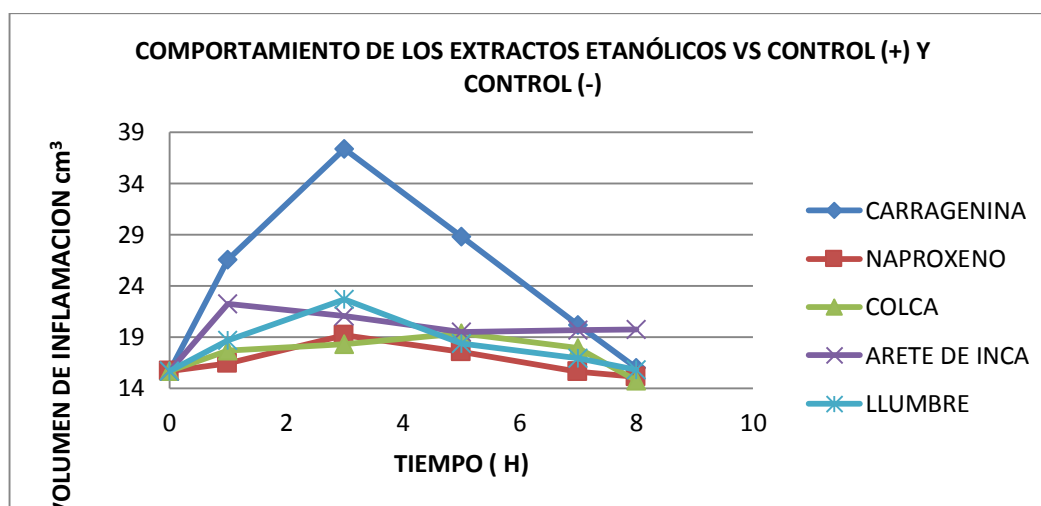


Gráfico No. 6 VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS

Cuadro No. 24 VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFORMICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA

VOLUMEN DE INFLAMACIÓN SUBEXTRACTOS CLOROFORMICOS					
TIEMPO	CARRAGENIA CONTROL (+)	NAPROXENO CONTROL (-)	COLCA	ARETE DE INCA	LLUMBRE
0	15,708	15,708	15,708	15,708	15,708
1	26,5486	16,3989	17,5215	17,7008	17,2568
3	37,3783	19,1787	17,1667	17,7877	17,6203
5	28,7773	17,5636	15,8322	16,6352	16,9443
7	20,1534	15,6119	16,4759	16,394	15,9032
8	15,9716	15,1339	14,8219	15,1339	15,337

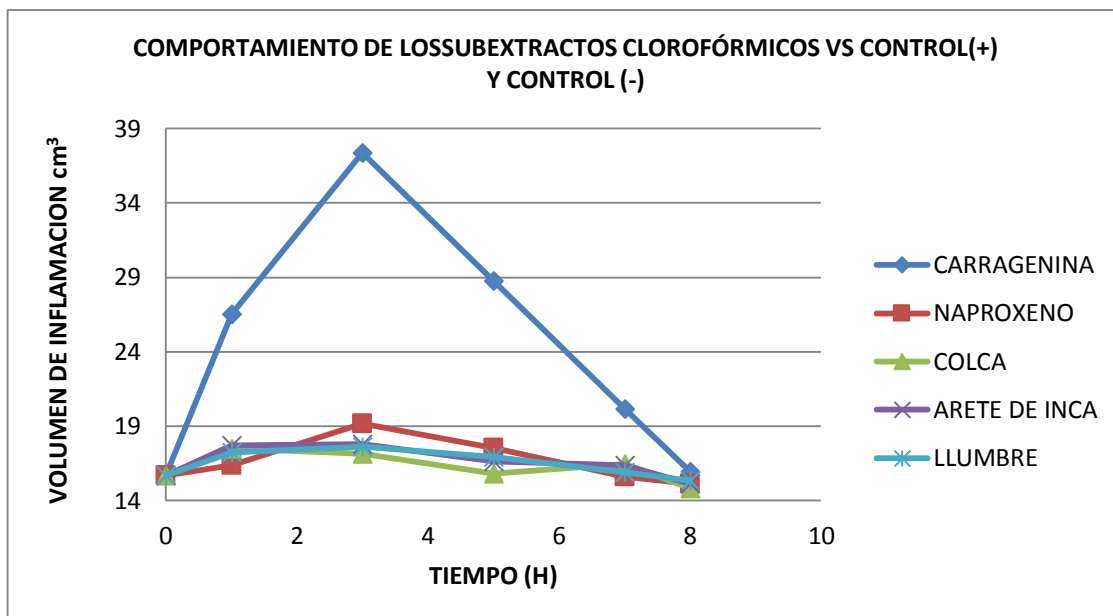


Gráfico No. 7 VOLUMEN DE INFLAMACION DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS

Cuadro No. 25 % DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA

% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN EXTRACTOS ETANÓLICOS

TIEMPO	CARRAGENIA CONTROL (+)	NAPROXENO CONTROL (-)	COLCA	ARETE DE INCA	LLUMBRE
0	0	0	0	0	0
1	0	38,23071	33,32676	16,21766	29,69647
3	0	48,69033	50,96998	43,59137	39,27266
5	0	38,96708	32,65436	32,36688	36,26559
7	0	22,53468	11,05901	2,47888	16,12784
8	0	5,2453	7,71059	-23,56615	1,19167

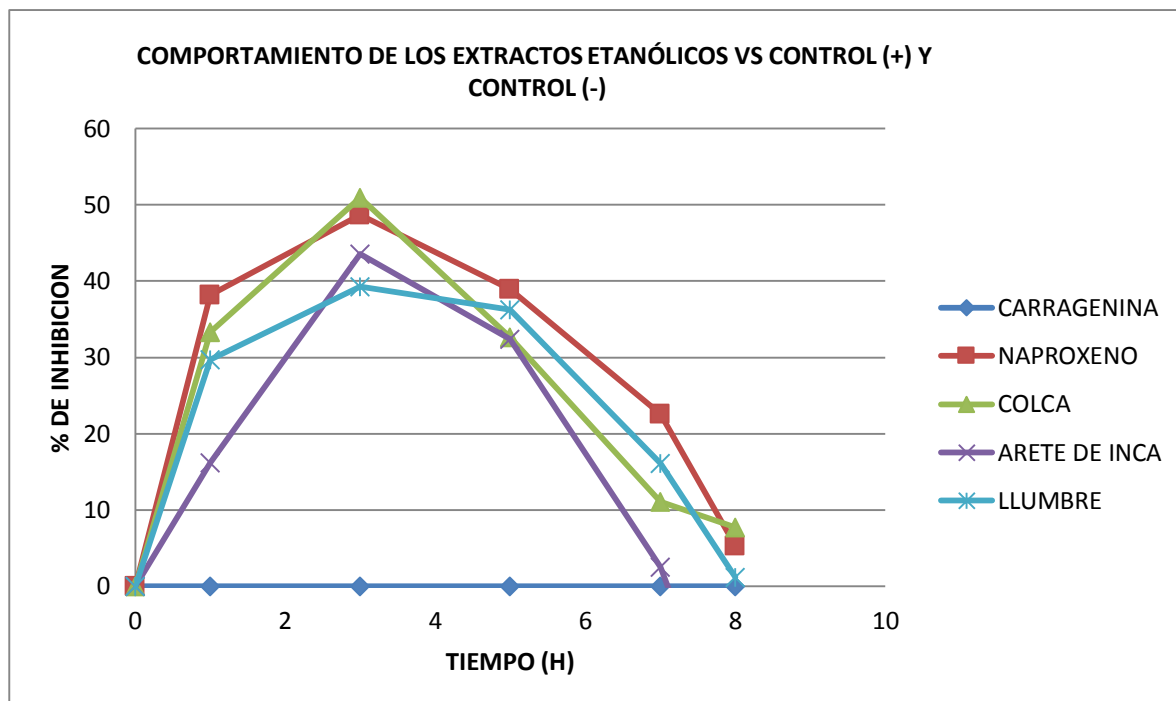


Gráfico No. 8% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN INFLAMACIONI DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS

Cuadro No. 26 % DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOSSUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS DE COLCA, LLUMBRE, ARETE DE INCA

% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS

TIEMPO	CARRAGENIA CONTROL (+)	NAPROXENO CONTROL (-)	COLCA	ARETE DE INCA	LLUMBRE
0	0	0	0	0	0
1	0	38,23071	34,00213	33,32676	34,99921
3	0	48,69033	54,07295	52,41159	52,8595
5	0	38,96708	44,98367	42,19348	41,1193
7	0	22,53468	18,24786	18,65381	21,08918
8	0	5,2453	7,19835	5,2453	3,97331

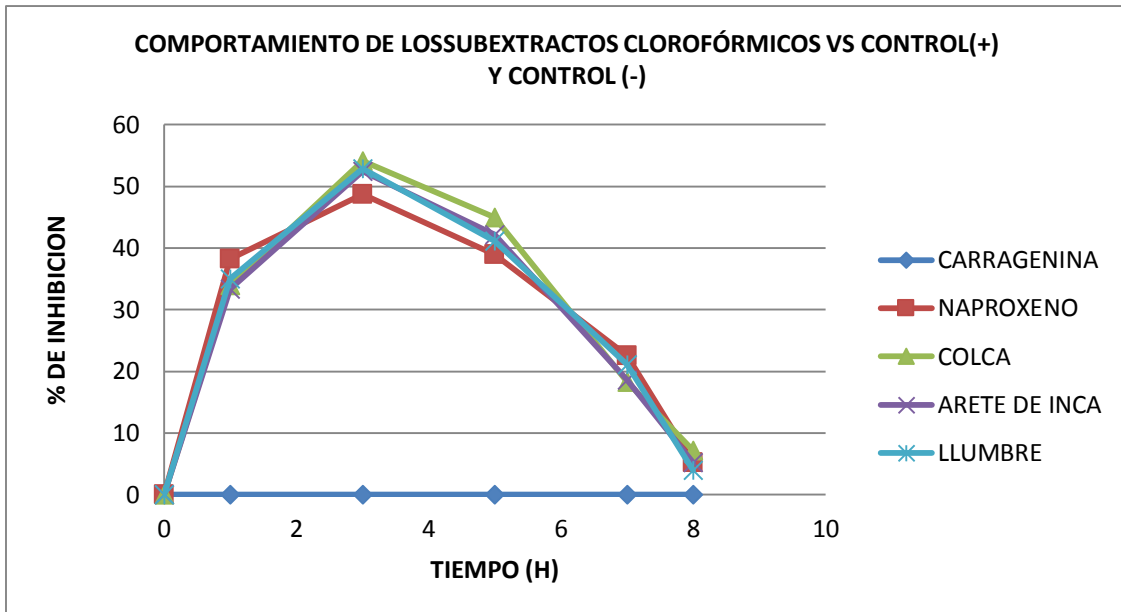


Gráfico No. 9% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS SUBEXTRACTOS CLOROFÓRMICOS Y GRUPOS CONTROL DURANTE 8 HORAS

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Los promedios de inhibición observados a 1,3,5,7,8, horas del Naproxeno y los extractos etanólicos de (*Miconiapseudocentrophora*, *Brachyotumledifolium*, *Fuchsia loxensis*), aplicados a ratas con edema plantar inducido con Carragenina al 0.5%, presenta actividad antiinflamatoria con lo cual se acepta la hipótesis. (Cuadro 12 y 13)
2. Los vegetales para el estudio fueron recolectados en Febrero del 2013 en San Francisco de Guayllabamba del Cantón Chambo- Provincia de Chimborazo , fueron identificados en el herbario de la ESPOCH y corresponden a *Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, y *Fuchsia loxensis*
3. Los macerados se concentraron a 1/8 de su volumen y se determinó las propiedades físicas y químicas con los siguientes datos:

Brachiotum: humedad relativa 49,49; cenizas 4,07; rendimiento del extracto etanólico 78,6%; transparente verde amarillento ; herbal fuerte, ligeramente dulce; pH4,18; índice de refracción 1,355; densidad relativa 0,91g /mL, contiene taninos galotánicos ,flavonoides, alcaloides, sesquiterpeno lactonas, quinonas, triterpenos. El subextracto clorofórmico con rendimiento 3,5%.

Fuchsia: humedad relativa 79,48; cenizas3,70; rendimiento del extracto etanólico 89,2%; líquido, ligeramente turbio ,café amarillento, característico dulce; pH 3,77; Índice de refracción 1,358; densidad relativa 0,75 g /mL. Contiene taninos

galotánicos, flavonoides, alcaloides, sesquiterpeno lactonas, quinonas, triterpenos. El subextracto clorofórmico con rendimiento 1, 8% (Cuadro N°4,5,6)

Miconia; humedad relativa 48,90; cenizas 2,91; rendimiento del extracto etanólico 97,5%; líquido, ligeramente turbio, marrón, endulzante, amargo; pH 3,60; índice de refracción 1,363; densidad relativa 0,97 g/mL. Contiene taninos galotánicos, flavonoides, alcaloides, sesquiterpeno lactonas, quinonas, triterpenos. El subextracto clorofórmico con rendimiento 1% (Cuadro N°4,5,6)

4. Se evaluó la actividad antiinflamatoria de extractos y subextractos, de Miconia, Brachiotum, y Fuchsia utilizando el modelo de edema plantar inducido por Carragenina(0.5%) en ratas caracterizándose a la tercera hora por inhibición de la inflamación para el Naproxeno 48%, Brachiotum 39%, Miconia 40%, Fuchsia 43% en el extracto etanólico; en el mismo orden para el subextracto clorofórmico para , Brachiotum 52%, Miconia 54%, Fuchsia 52% .(CUADRO N° 25 , 26)
5. En el análisis del comportamiento de los tratamientos(extractos y subextractos) de inhibición de la inflamación por los métodos estadísticos son:

Brachiotum: El test de Anova estableció diferencias significativas entre el tratamiento alcohólico y clorofórmico. Los resultados post Tukey a las 1,3,5,7 horas confirman la actividad y dan valores de 34%, 52%, 41%, 21%, 3% respectivamente, para el subextracto clorofórmico, a la tercera hora es más alta la actividad antiinflamatoria con respecto al Naproxeno 48%.(CUADRO N° 26)

Miconia: El test de Anova establece diferencias significativas entre los tratamientos alcohólico y clorofórmico.. Los resultados post Tukey a las 1,3,5,7 horas confirman la actividad y dan valores de 34%, 54%, 44%, 18%, 7% respectivamente, para el subextracto clorofórmico, a la tercera hora es más alta la actividad antiinflamatoria con respecto al Naproxeno 48%.(CUADRO N° 26)

Fuchsia: El test de Anova establece diferencias significativas entre los tratamientos alcohólico y clorofórmico. Los resultados post Tukey a las 1,3,5,7 horas confirman la actividad y dan valores de 33%, 52%, 42%, 18%, 5% respectivamente, para el subextracto clorofórmico, a la tercera hora es más alta la actividad antiinflamatoria con respecto al Naproxeno 48%. (CUADRO N° 26)

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de toxicidad
- Alargar la toma de tratamientos
- Realizar estudios de estabilidad para la estimación de vida útil de los extractos y subextractos.
- Realizar la dosificación de los principios activos en los vegetales para elaborar un fitofármaco potenciando la actividad antiinflamatoria.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La investigación de la evaluación del efecto antiinflamatorio (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en *Rattus norvegicus*, se realizó en el Bioterio, Laboratorio de fitoquímica - Facultad de Ciencias- ESPOCH.

La identificación taxonómica se hizo en el herbario; la metodología utilizada en la preparación de extractos fue primero por maceración del vegetal fresco con etanol concentrado a un 1/8 del volumen refrigerado, los sub extractos obtenidos por extracción con cloroformo, eliminado el solvente, los residuos obtenidos se analizaron las propiedades físicas y químicas, la aplicación por vía oral a *Rattus Norvegicus* en seis lotes por triplicado para cada vegetal, previo a la inducción de edema plantar por Carragenina 0,5%, la disminución de la medida plantar en cm² indica efectividad.

Los resultados obtenidos son: Llumbre que corresponde: *Brachiotumledifolium*, humedad 49%; Cenizas 4,07; Rendimiento Extracto 78,6%; liquido transparente; verde amarillento herbal; ligeramente dulce; pH 14,18; Índice refracción 1.355, Densidad 0,91 g/mL; metabolitos, Flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos; la actividad antiinflamatoria 39,27%. *Fuchsia loxensis* humedad 79,48; Cenizas 3,70; Rendimiento extracto 89,2%; liquido ligeramente turbio; café amarillento; característico dulce, pH 4,18, I. refracción 1,35; Densidad relativa 0,75 g/mL metabolitos, Flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos. La actividad antiinflamatoria 43,59%. *Miconia pseudocentrophora* Humedad 48%; Cenizas 2,91; rendimiento extracto 97,5%; liquido turbio; marrón, endulzante, amargo; pH 3,60; Índice r. 1,363; Densidad relativa 0,97 g/mL; metabolitos, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos. La actividad antiinflamatoria, 54,07%. El extracto clorofórmico *Brachiotum* con actividad de 52,85%; *Miconia* 54,07%, *Fuchsia* 52,41%.

Los resultados de la actividad antiinflamatoria son para el subextracto de *Miconia*.

SUMMARY

The investigation of the evaluation of anti-inflammatory effect (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) in *Ratus novergicus* was conducted at the Bioterio, phytochemical Laboratory, Faculty of Sciences- ESPOCH.

The taxonomic identification was done in the herbarium, the methodology used in preparing extracts was first by maceration of fresh vegetable with ethanol refrigerated and concentrated at a volume of 1/8, the sub extracts obtained by extraction with chloroform, the solvent removed, in the residues obtained the physical and chemical properties were analyzed, the oral application at *Rattus novergicus* in six lots triplicated for each plant, prior to the induction of plantar edema by Carrageenan 0,5%, decrease of the measure in cm² shows effectiveness.

The obtained results correspond to *Brachyotum ledifolium*, moisture 49%, ash 4,07, extract yield 78,6%, transparent liquid, yellowish green herbal, slightly sweet, pH 4,18; refractive index 1,355 density 0,91 g/ml; metabolites, flavonoids, alkaloids, quinones, triterpenes, anti-inflammatory activity 39,27%. *Fuchsia loxensis* moisture 79,48%, ash 3,70, extract efficiency 89,2%, slightly cloudy liquid, brown yellowish, characteristic sweet, pH 4,18, I. refraction 1,35, relative density 0,75 g/mL metabolites, flavonoids, alkaloids, quinones, triterpenes. The anti-inflammatory activity 54,0. 7%. The chloroform extract activity *Brachyotum* with 52,85%; *Miconia* 54,07%, 52,41% *Fuchsia*. The results of the anti-inflammatory activity are for The extract from sub *Miconia*.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **AMARILLIS.S.**, Manual de ensayos toxicológicos experimentales in vivo e in vitro. 8a.ed., Guatemala – Guatemala., editorial universitaria., Universidad de San Carlos de Guatemala., 2000., Pp. 422 – 434.
2. **ANTONIO. J., Y OTROS**, Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales.,10 a . ed., Sao Paulo -Brasil Editorial rivaplamed., 2001. Pp. 60.
3. **BENITEZ N.**, Plantas útiles en el departamento del choco, parte I: Extractos, Colciencias, Universidad tecnológica del Choco, 1a. ed., impreso en Bogotá- Colombia editorial Uryco., 2012. Pp. 125.
4. **DAWSON. L., Y OTROS.**, Lo esencial en farmacología., 2e. ed., Editorial Elsevier Madrid- España., 2001., Pp.58.
5. **DOMINGUEZ. X.**, Métodos de fitoquímica.,2ª. ed., México D.F. – México., Editorial Limusa., 1979., Pp. 81-211.
6. **FERNÁNDEZ. O., Y OTROS.**, Farmacología básica y clínica., 18a ed., Madrid- España., Editorial Medica Panamericana., 2009., Pp. 254-255.

7. **GOODMAN, GILMAN.,** Las bases farmacológicas de la terapéutica., 10a ed., D.F. México- México., Editorial McGraw-Hill Interamericana., Volumen II., 2000., Pp. 599-643.
8. **GENNARO, A.,** Remington Farmacia., 20a.ed., Tomo 1., Buenos Aires – Argentina., Ed. Médica Panamericana S.A., 2003., Pp. 872, 873, 1198.
9. **HARRISON.,** Principios de Medicina Interna., Volumen I., 15a. ed., Mc Graw Hill, Madrid - España., 2002., Pp. 345-362.
10. **HARDMAN, J.,** Bases farmacológicas de la terapéutica .,Volumen I.,9a.ed.,México- México., Editorial McGraw-Hill Interamericana., 1996., Pp. 352.
11. **HEERMAN, O., Y OTROS.,** Sistemas Forestales integrales para la Sierra del Ecuador.1e.ed.,Quito - Ecuador ., Editorial AbyaYala., 2001., Pp. 25, 37,59.
12. **HOFSTEDE, R., Y OTROS.,** Geografía, ecología y Forestación de la sierra alta del Ecuador., 2e. ed., Quito – Ecuador., Editorial AbyaYala., 1998 Pp. 56, 57, 61.
13. **JANEWAY, CH.,** Inmunología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad.,2a.ed., Madrid - España., Editorial Masson., 2003., Pp. 1233-1256.
14. **MOSTACERO L., y otros.** Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú, editora Normas legales S.A.C .,1a.ed., 2002. Pp. 142

15. **KUMAR, V., RAMZI, S., STANLEY, L.,** Patología humana 8a ed., Madrid – España., editorial edi., 2008., Pp. 56,57,58.
16. **LOCK, O.,** Colorantes naturales., 1a ed., Lima – Perú., Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú., 1997., Pp. 71, 72-74, 77-83.
17. **LOCK, O.,** Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales., 2a ed., Lima – Perú., Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú., 1994., Pp. 22-28, 72-80, 114-117.
18. **MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO.,** Farmacopea Española., 2a ed., Madrid - España., Imprenta Nacional del Boletín Oficial del Estado., 2002., Pp. 454-455, 548, 549, 553, 1735, 2263-2265; 2443-2445
19. **MOSERRAT R.,** y otros. Plantas útiles del Ecuador., aplicaciones, retos, y perspectivas., 1e. ed., Editorial Abya- Yala. Quito- Ecuador., 2008 Pp. 368.
20. **NARANJO, P., Y OTROS.,** Etnomedicina: Progresos ítalo – latinoamericanos., Volumen II., Quito- Ecuador., Editado por la universidad Andina Simón Bolívar., 1997., Pp. 49.
21. **NIKOLAI S.,** Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos., 1e.ed. Bogotá – Colombia., Editorial CYTED., 2000 Pp. 35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45.
22. **ORLANDO. J., Y OTROS.,** Ecología de los páramos andinos., Bogotá – Colombia., 1e. ed., Editado Universidad de Colombia., 1985., Pp. 67, 120, 194.

- 23. QUEZADA. A.,** Introducción Al Manejo de Animales de Laboratorio: Roedores y Pequeñas Especies., Mérida – México., Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán., 2007., Pp. 41-44, 46.
- 24. SAMANIEGO. E.,** Fundamentos de farmacología médica., 6^a ed., Quito - Ecuador., Casa de la Cultura Ecuatoriana., 2005., Pp. 427-443
- 25. SERRANO. R.,** Introducción al análisis de datos experimentales: Tratamiento de datos., 1e. ed., Castellón – España., Publicaciones de la universidad de Jaume., 2003., Pp. 76 -79, 109 -110, 112.
- 26. BARREIRO, O., MADRID, F.,** Revista española de cardiología., Bases moleculares de las interacciones Leucocito - Endotelio durante la respuesta inflamatoria., 2009 Vol 62. Núm 05. Mayo 2009. Pp. 17,18.
- 27. MIRANDA S.,** Estudio de Factibilidad para un Proyecto de turismo Alternativo en la Comunidad San Pedro de Llucud-chambo provincia de Chimborazo. Tesis, Facultad de Recursos Naturales ESPOCH, Riobamba- Ecuador 2004.Pp. 27,12.
- 28. FIERRO. M.,** Estudio de Alternativas para el Desarrollo Eco turístico del Sector de Roncón, Chambo provincia de Chimborazo., TESIS, Facultad de Recursos Naturales, ESPOCH Riobamba- Ecuador 2003.Pp 22.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET.

29. ARBOLES Y ARBUSTOS DE LOS ANDES DEL ECUADOR

<http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora>

[2013/03/29](#)

30. ARTICULO EFECTO ANTIMICROBIANO

<http://www.unapiquitos.edu.pe/oficinas/iunap/archivos/2009>

[2013-06-23](#)

31. ANTIINFLAMATORIOS

<http://mvz.unipaz.edu.co/textos/lecturas/preclinica/pdf>.

[2013-06-05](#)

32. AGRICULTURA

33. <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/>.

[2013-06-13](#)

34. ANALGÉSICOS

<http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/pdf>.

[2013-06-20](#)

35. CAPÍTULO PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA.

http://catarina./documentos/mbc/baez_cg/capitulo11.pdf

[2013-06-20](#)

36. CAPITULO 11 ESPECIES FUCHSIA

Catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/...c./capitulo11.pdf

[2013-06-21](#)

37. CIMED ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

<http://sibdi.ucr.ac.cr/CIMED/cimed18.pdf> .

2013-05-13

38. FLAVONOIDES

http://FORESTALES%20NO%20LE%D1OSOS/Tema_13_Flavonoides.pdf 2012-11-05

20013/03/03.

39. MICONIA(MELASTOMATACEAE)

http://www.especie/magnoliophyta/melastomataceae/miconia_argenl

2013/02/20

40. PROCESOINFLAMATORIO

<http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/>

2013-06-13

41. PROSPECTO DE NAPROXENO SÓDICO CINFA 550 MG, 40 COMPRIMIDOS.

http://salud.publispain.com/prospecto/naproxeno_sodico_html

2013/02/22

42. RATTUS NOVERGICUS

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas>

2013/05/17.

43. TALLER NACIONAL SOBRE INFLAMACIÓN SOCIEDAD CUBANA DE FARMACOLOGÍA

<http://biblioteca.villaclara.cu/UserFiles/hipoglicemia.pdf>

2012/11/19.

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

Anexo No. 1 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA



Fotografía No. 11
Balanza Analítica



Fotografía No. 12
Estufa



Fotografía No. 13 **Mufla**



Fotografía No. 14 **Desecador**

Anexo No. 2 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO



Fotografía No. 15 **pH-metro**



Fotografía No. 16 **Refractómetro**

Anexo Nº 3 TAMIZAJE FITOQUIMICO DE LAS PARTES AEREAS DE LOS VEGETALES

BRACHIOTUM

Fotografía No. 17



TAMIZAJE FITOQUIMICO MICONIA



Fotografía No. 18 **E. Espuma**



Fotografía No. 19 **Compuestos fenólicos**

Fotografía No. **E. Shinoda**



Fotografía No. 21 **E. Quinonas**

Fotografía No. 20 **E. Chalconas**



Fotografía No. 22
Sesquiterpenolactonas



Fotografía No. 23 **Rosentaler**



TAMIZAJE FITOQUIMICO FUSHIA

Fotografía No. 24 E. Espuma



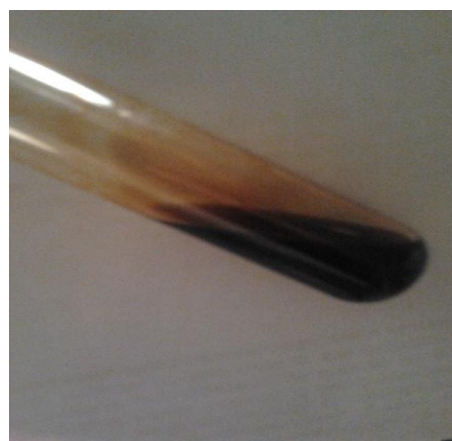
Fotografía No. 25 Compuestos fenólicos



Fotografía No. 26 E. Shinoda



Fotografía No. 27 Quinonas



Fotografía No. 28 Rosentaller



ANEXO Nº 4 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS (*Rattus norvegicus*)

Fotografía No. 29 Manipulación



Fotografía No. 30 Aplicación de la sedación



**Fotografía No. 31
Edema plantar con tratamiento Miconia a la 3 hora**



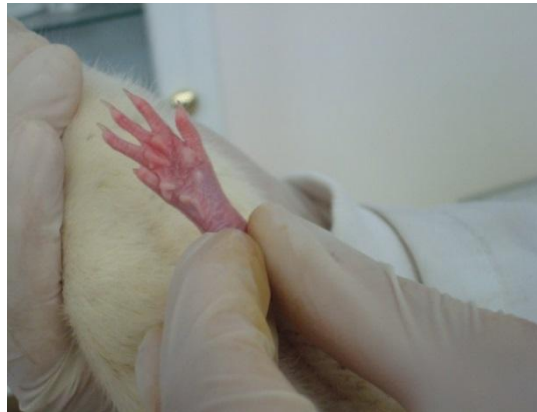
**Fotografía No. 32
Edema plantar con tratamiento Miconia a la 8 hora**



**Fotografía No. 33 Edema plantar con
tratamiento Brachiotum a la 3 hora**



**Fotografía No. 34 Edema plantar con
tratamiento Brachiotum a la 8 hora**



ANEXO Nº 4 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS (*Rattus norvegicus*)

Fotografía No. 35 Edema plantar con tratamiento Fuchsia a la 3 hora



Fotografía No. 36 Edema plantar con tratamiento Fuchsia a la 8 hora



Anexo No. 5 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS (*Rattusnovergicus*)

Cuadro No. 27 DATOS ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOSEXTRACTO ALCOHÓLICO Y SUBEXTRACTO CLOROFORMICO RESPECTIVAMENTE DE COLCA (*Miconiapseudocentrophora*), LLUMBRE (*Brachyotumledifolium*), ARETE DE INCA (*Fuchsia loxensis*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS (<i>Rattusnovergicus</i>)							
TIEMPO (H)	EXTRACTOS	DIAMETRO (cm)	LARGO (cm)	VOLUMEN DE INFLAMACION	% DE INHIBICION	PROMEDIO INHIBICION	
0	CONTROL +	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	CONTROL - naproxeno cartagenina	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,2	15,7080	0,0	0.0000	
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
		2,5	3,2	15,7080	0,0		
1	CONTROL +	3,2	3,2	25,7360	3,1	0,00000	
		3,2	3,3	26,5402	0,0		
		3,3	3,2	27,3696	-3,1		
	CONTROL - naproxenocarragenina	2,6	3,2	16,9898	36,0	38,23071	
		2,5	3,1	15,2171	42,7		
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,6	3,2	16,9898	36,0	33,32676	
		2,7	3,2	18,3218	31,0		
		2,7	3,2	18,3218	31,0		
			2,65	3,25	17,9253	32,5	34,00213

	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,6	3,2	16,9898	36,0	
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	3	3,2	22,6195	14,8	
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,7	3,2	18,3218	31,0	
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	2,7	3,21	18,3791	30,8	
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,6	3,2	16,9898	36,0	
	CONTROL +	3,8	3,3	37,4259	-0,1	
	CONTROL - naproxenocarragenina	2,7	3,3	18,8944	49,5	
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,8	3,3	20,3199	45,6	
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,6	3,3	17,5207	53,1	
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	2,9	3,3	21,7972	41,7	
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,6	3,3	17,5207	53,1	
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	3	3,3	23,3264	37,6	
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,65	3,3	18,2011	51,3	
3	CONTROL +	3,4	3,3	29,9614	-4,1	
	CONTROL - naproxenocarragenina	2,6	3,3	17,5207	39,1	
5		2,9	3,3	21,7972	24,3	

	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,8	3,1	19,0884	33,7	
		2,6	3,25	17,2552	40,0	
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,55	3,3	16,8533	41,4	
		2,45	3,3	15,5574	45,9	
		2,45	3,2	15,0860	47,6	44,98367
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	2,8	3,3	20,3199	29,4	
		2,7	3,1	17,7493	38,3	
		2,8	3,3	20,3199	29,4	32,36688
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,55	3,3	16,8533	41,4	
		2,5	3,3	16,1989	43,7	
		2,55	3,3	16,8533	41,4	42,19348
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	2,7	3,25	18,6081	35,3	
		2,6	3,3	17,5207	39,1	
		2,7	3,3	18,8944	34,3	36,26559
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,6	3,3	17,5207	39,1	
		2,55	3,3	16,8533	41,4	
		2,6	3,1	16,4588	42,8	41,11930
	CONTROL +	2,8	3,3	20,3199	-0,8	
		2,8	3,1	19,0884	5,3	
		2,85	3,3	21,0521	-4,5	0,00000
	CONTROL - naproxenocarragenina	2,5	3,2	15,7080	22,1	
		2,5	3,3	16,1989	19,6	
		2,4	3,3	14,9289	25,9	22,53468
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,8	3,3	20,3199	-0,8	
		2,6	3,25	17,2552	14,4	
		2,5	3,3	16,1989	19,6	11,05901
	COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,3	16,1989	19,6	
		2,5	3,2	15,7080	22,1	
		2,6	3,3	17,5207	13,1	18,24786
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	2,8	3,3	20,3199	-0,8	
		2,7	3,2	18,3218	9,1	
		2,8	3,3	20,3199	-0,8	2,47888
	ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,3	16,1989	19,6	
		2,6	3,3	17,5207	13,1	
		2,5	3,15	15,4626	23,3	18,65381
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	2,6	3,3	17,5207	13,1	
		2,6	3,2	16,9898	15,7	
		2,5	3,3	16,1989	19,6	16,12784
	LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,25	15,9534	20,8	
		2,45	3,3	15,5574	22,8	
		2,5	3,3	16,1989	19,6	21,08918
7		2,5	3,2	15,7080	1,7	
		2,6	3,2	16,9898	-6,4	
	CONTROL +	2,5	3,1	15,2171	4,7	0,00000
8		2,5	3,2	15,7080	1,7	5,24530

CONTROL - naproxenocarragenina	2,5	3,1	15,2171	4,7	
	2,4	3,2	14,4765	9,4	
COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) ALCOHOLICO 100%	2,5	3,1	15,2171	4,7	7,71059
	2,5	3,2	15,7080	1,7	
	2,3	3,2	13,2953	16,8	
COLCA (<i>Miconiapseudocentrophora</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,2	15,7080	1,7	7,19835
	2,3	3,2	13,2953	16,8	
	2,5	3,15	15,4626	3,2	
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) ALCOHOLICO 100%	2,85	3,2	20,4141	-27,8	-23,56615
	2,8	3,2	19,7041	-23,4	
	2,8	3,1	19,0884	-19,5	
ARETE DE INCA (<i>Fuchsia loxensis</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,2	15,7080	1,7	5,24530
	2,5	3,1	15,2171	4,7	
	2,4	3,2	14,4765	9,4	
LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) ALCOHOLICO 100%	2,5	3,2	15,7080	1,7	1,19167
	2,6	3	15,9279	0,3	
	2,5	3,2	15,7080	1,7	
LLUMBRE (<i>Brachyotumledifolium</i>) CLOROFORMICO 100%	2,5	3,1	15,2171	4,7	3,97331
	2,5	3,2	15,7080	1,7	
	2,45	3,2	15,0860	5,5	