



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO**

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL
EXTRACTO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*) MEDIANTE EL
TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

DIANA PAULINA PEÑIDA PIZHA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A mi Dios, por darme la vida, a mi madre Gricelda a quien amo tanto por ser el pilar fundamentales y por brindarme su apoyo y amor incondicional y a mi padre Antonio por su esfuerzo diario y su cariño, porque gracias a él y a sus buenos consejos soy quien soy y me siento orgullosa de ello.

A mi sobrino Luis Fernando, quien es y ha sido una de mi inspiración, felicidad y motivación para luchar y seguir cumpliendo mis sueños, a mis otros sobrinitos gracias por demostrarme con una sonrisa que el amor no tiene límite.

A todos mis hermanos, a quienes amo infinitamente y los tengo presentes, porque confiaron desde el principio en mí y me dieron fuerzas para conseguir mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarme a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y mucha felicidad.

A mi familia por confiar en mí y por estar siempre a mi lado.

A la Dra. Susana Abdo y Dr. Carlos Espinoza por su esfuerzo y su motivación en el desarrollo de la presente tesis.

Al Dr. Oswaldo Duque por su ayuda en el desarrollo de la investigación.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a mis profesores que durante toda mi carrera profesional han aportado un granito de arena en mi formación profesional.

A mi cuñado Luis quien desde el principio me brindo todo su apoyo incondicional, al igual que todos mis cuñados a quienes los respeto y les quiero mucho.

A mis amigas, quienes siempre estuvieron en las buenas y en las malas.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”**, de responsabilidad de la señorita egresada Diana Paulina Peñida Pizha, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. César Ávalos

DECANO FAC. CIENCIAS

Dra. Ana Albuja

DIRECTORA DE ESCUELA

Dra. Susana Abdo

DIRECTORA DE TESIS

Dr. Carlos Espinoza

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dra. Elizabeth Escudero

MIEMBRO DE TRIBUNAL

**COORDINADOR ENCARGADO
DE SISTEMA DE BIBLIOTECA**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, **Diana Paulina Peñida Pizha**, 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

(DIANA PAULINA PEÑIDA PIZHA)

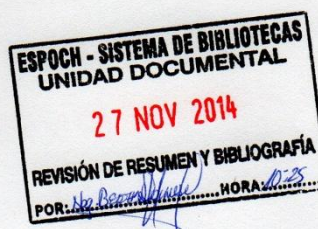
RESUMEN

El propósito del trabajo fue comprobar la actividad antiinflamatoria del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*), realizado en el laboratorio Fitoquímico de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con finalidad de dar una alternativa frente al uso de fármacos antiinflamatorios. Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó el control de calidad de la materia prima y del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*), el efecto antiinflamatorio se evaluó en 22 ratas albinas de cepa Wistar de forma aleatoria se dividió en 6 grupos de 3 ratas cada uno. Se administró por vía oral 1 mL de las soluciones, GB (blanco), GN (control negativo), GP (control positivo), grupos con el tratamiento: GE₁ (extracto etanólico 20% más carragenina 1%), GE₂ (extracto etanólico 40% más carragenina 1%) y GE₃ (extracto etanólico 80% más carragenina 1%). Se midió el volumen de inflamación de la pata derecha de la rata desde las 0 hasta las 6 horas, los resultados se analizaron con el test ANOVA y Tuckey HSD con un intervalo de 95% de confianza. El análisis de toxicidad aguda con el extracto al 80% no presentó ninguna evidencia. Se concluye que el extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) al 80% tienen actividad antiinflamatoria idéntica al Naproxeno sódico y es seguro. Se recomienda elaborar un fitofármaco del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) para facilitar la administración.



SUMMARY

The purpose of the study was to test anti-inflammatory activity of the extract Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) by induced edema test in rats (*Rattus norvegicus*), performing on the phytochemical laboratory Science Faculty of the Polytechnic School of Chimborazo with the purpose of providing an alternative to the use of anti-inflammatory drugs. To evaluate the antiinflammatory activity, quality control of raw material and extract Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) was performed, the antiinflammatory effect was value at 22 albino rats of strain Wistart randomly they were divided into 6 groups of 3 rats each. It was administered orally 1 mL of solution, GB (White), NG (negative control) GP (positive control), treatment groups: GE₁: (etanol extract 20% plus 1% carrageen), GE₂: (etanol extract 40% plus 1% carrageen) and GE₃ (etanol extract 80% plus 1% carrageenan). Volumen swelling of the right leg of the rat was measured from 0 to 6 hours the results were analyzed with ANOVA and Tuckey HSD test with a 95% confidence level. Analysis of acute toxicity extract 80% presented no evidence. It is concluded that ethanol extract of Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) 80% have anti-inflammatory activity identical to naproxen sodium and is safe. It is recommended that a phytodrug atsera Allpa extract (*Lepidium bipinnatifidum*) to facilitate administration.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 INFLAMACIÓN	1
1.1.1 Introducción	1
1.1.2 Definición	1
1.1.3 Las causas y los efectos de la inflamación	2
1.1.4 Procesos de la inflamación	3
1.1.5 Fagocitosis	4
1.1.5.1 Reconocimiento y fijación	4
1.1.5.2 Englobamiento	5
1.1.5.3 Destrucción o degradación.....	5
1.1.6 Células de la inflamación.....	6
1.1.6.1 Mastocitos y basófilos	6
1.1.6.2 Neutrófilos	6
1.1.6.3 Fibroblastos.....	7
1.1.6.4 Linfocitos y las células plasmáticas	7
1.1.6.5 Las células endoteliales	7
1.1.7 Fases de la inflamación.....	8
1.1.8 Clasificación de la inflamación.....	9
1.1.8.1 Inflamación aguda.....	11

1.1.8.2 Inflamación crónica	12
1.1.8.3 Mediadores químicos de la inflamación	13
1.2 Tratamientos y cuidados utilizados en procesos de la inflamación	17
1.2.1 Fármacos Antiinflamatorios	17
1.2.1.1 Antiinflamatorios No Esteroides (AINES).....	17
1.2.1.2 Antiinflamatorios Esteroides	20
1.3 Naproxeno.....	21
1.3.1 Farmacocinética	22
1.3.2 Efectos Adversos	22
1.4 Uso de plantas medicinales.....	22
1.5 Familia Brassicaceae	23
1.5.1 Género <i>Lepidium</i>	24
1.5.2 Propiedades Farmacológicas.....	24
1.5.3 <i>Lepidium bipinnatifidum</i> (ALLPA ATSERA).....	25
1.6 Estudios in vivo e in vitro	27
1.7 Carragenina.....	27
1.8 <i>Rattus norvegicus</i> (Rata).....	28
1.9 Toxicidad Aguda.....	31
CAPÍTULO II	
2. PARTE EXPERIMENTAL	32
2.1 Lugar de investigación.....	32
2.2 Materiales, reactivos y equipos.....	32
2.2.1 Materia prima.....	32
2.2.2 Reactivo biológico	33
2.2.2.1 Descripción	33
2.2.2.2 Condiciones ambientales	33
2.2.3 Materiales, equipos y reactivos para el análisis del vegetal	33
2.3. Métodos y técnicas.....	35
2.3.1 Recolección de la materia vegetal	35

2.3.2 Limpieza y desinfección del material vegetal.....	35
2.3.3. Extracción de los metabolitos secundarios de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) para el estudio farmacológico.....	36
2.3.4 Control de calidad de la materia prima.....	36
2.3.5 Control de calidad de los extractos	37
2.3.5.1 Parámetros de calidad cualitativo del extracto etanólico.....	37
2.3.6 Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios.....	37
2.4 Análisis cromatográfico.....	38
2.4.1 Cromatografía en capa fina para flavonoides	38
2.4.2. Análisis cromatográfico para los Alcaloides	39
2.5 Cuantificación espectrofotométrica para los flavonoides totales expresados como porcentaje de rutina.....	39
2.6 Evaluación de la actividad Antiinflamatoria del extracto de Allpa Atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) mediante el edema plantar inducido por carragenina	40
2.6.1 Periodo de acondicionamiento y ambientación	40
2.6.2 Modelo experimental	40
2.6.3 Modelo de inflamación (Edema plantar inducido por carragenina)	42
2.6.4 Tratamiento.....	42
2.7. Evaluación de la toxicidad Aguda del extracto de Allpa Atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	44
2.7.1 Diseño experimental.....	44
2.7.2 Análisis Anatopatológico de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	45
2.7.3 Examen Histopatológico.....	46
CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.1 Control físico-químico de la droga cruda	47
3.2 Tamizaje fitoquímico.....	48
3.3 Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>)	50
3.3.1 Determinación de los requisitos organolépticos del extracto etanólico.....	50

3.3.2 Determinación de parámetros físicos del extracto etanólico de Allpa atsera	50
3.4. Análisis Cromatográfico en capa fina (TLC)	51
3.4.1 Cromatografía para flavonoides.....	51
3.5 Cuantificación de flavonoides totales como porcentaje de Rutina por el método Espectrofotométrico	54
3.6 Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) mediante el test de edema inducido en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	54
3.6.1 Análisis estadístico de la actividad antiinflamatoria de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>).....	57
3.6.2 Análisis estadístico.....	59
3.7 Toxicidad aguda del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>).....	61
3.8 Examen histopatológico.....	63
CAPÍTULO IV	
4. CONCLUSIONES.....	67
CAPÍTULO V	
5. RECOMENDACIONES.....	68
BIBLIOGRAFÍA.....	69
ANEXOS	76

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IgE	Inmunoglobulinas E
IFNγ	Interferón gamma
NK	Natural killer
COX	Ciclooxigenasa
PG	Prostaglandinas
pK	constante de disociación
pH	Potencial de hidrógeno
°C	Grados Celsius
WI	Wistar
V	Volumen
NaOH	Hidróxido de sodio
M	Molar
μL	Microlitros
nm	Nanómetros
UV	Ultravioleta
mg	Miligramo
cm	Centímetros
g	Gramos
Kg	Kilogramo
T	Temperatura
Rf	Factor de retención
Ppm	Partes por millón
TLC	Cromatografía en capa fina
%	Porcentaje

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Acciones de los mediadores de la inflamación	16
TABLA No. 2	Clasificación de los AINES	20
TABLA No. 3	Clasificación taxonómica de Allpa Atsera	26
TABLA No. 4	Taxonomía de la rata (<i>Rattus norvegicus</i>).....	28
TABLA No. 5	Datos fisiológicos de la rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	29
TABLA No. 6	Ciclo biológico.....	30
TABLA No. 7	Requisitos ambientales de la rata.....	31
TABLA No. 8	Tamizaje fitoquímico del extracto de Allpa Atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>)	38
TABLA No. 9	Denominación de los grupos experimentales	41
TABLA No. 10	Toxicidad aguda.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados del control de calidad de la droga cruda Allpa Atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	46
CUADRO No. 2	Tamizaje fitoquímico de los extractos de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	48
CUADRO No. 3	Determinación organoléptica del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	50
CUADRO No. 4	Determinación de parámetros físicos del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	50
CUADRO No. 5	Determinación cromatográfica de flavonoides en capa fina del extracto de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	52
CUADRO No. 6	Determinación cromatográfica de alcaloides en capa fina del extracto de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Mayo 2014	53
CUADRO No. 7	Cuantificación de flavonoides totales expresados en µg de Rutina/ g de muestra del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). En el laboratorio de Química Instrumental. Facultad de Ciencias. Mayo 2014	54
CUADRO No. 8	Datos de los volúmenes de inflamación de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) de los grupos tratados a diferentes tiempos. Bioterio. Facultad de Ciencias. Mayo 2014	55
CUADRO No. 9	Porcentaje de inhibición de inflamación de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) de los grupos tratados a diferentes tiempos. Bioterio. Facultad de Ciencias. Epoch. Julio 2014 ..	57
CUADRO No. 10	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>) en ratas. Facultad de Ciencias. Mayo 2014 Bioterio de la facultad de ciencias. Epoch. junio 2014	61
CUADRO No. 11	Determinación de los signos de las ratas durante los siete días de la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). Bioterio. Facultad de Ciencias. Mayo 2014	62
CUADRO No. 12	Examen histopatológico de las ratas después de la administración del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>). Bioterio. Facultad de Ciencias. Mayo 2014	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Volúmenes de inflamación de los diferentes grupos experimentales vs. Tiempo. Bioterio. Facultad de Ciencias. Epoch. Julio 2014.	56
GRÁFICO No. 2	Porcentaje de inhibición de la inflamación de los diferentes grupos experimentales vs. Tiempo. Bioterio. Facultad de Ciencias. Epoch. Julio 2014	58
GRÁFICO No. 3	Test de ANOVA de la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en tiempos diferentes. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Julio 2014	60
GRÁFICO No. 4	Test de Tuckey de la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en tiempos diferentes. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Julio 2014	60

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Vía inflamatoria genérica	2
FIGURA No. 2	Componentes de la respuesta local y sistémico	4
FIGURA No. 3	Rutas principales de inflamación alérgica.....	8
FIGURA No. 4	Fase inflamatoria o de latencia	9
FIGURA No. 5	Tipos de inflamación	10
FIGURA No. 6	Inflamación aguda	11
FIGURA No. 7	Mediadores químicos	14
FIGURA No. 8	Biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos	18
FIGURA No. 9	Estructura del naproxeno.....	21
FIGURA No. 10	<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	25
FIGURA No. 11	Estructura química de la carragenina	28

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Materia prima secada y triturada Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>)	76
FOTOGRAFÍA No. 2	Maceración de la materia prima (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>)	76
FOTOGRAFÍA No. 3	Evaporación del solvente de la maceración de Allpa atsera.....	77
FOTOGRAFÍA No. 4	Sólidos totales.....	77
FOTOGRAFÍA No. 5	Requisitos organolépticos	78
FOTOGRAFÍA No. 6	Determinación del pH	78
FOTOGRAFÍA No. 7	Ensayo de Dragendorff.....	79
FOTOGRAFÍA No. 8	Ensayos de Mayer	79
FOTOGRAFÍA No. 9	Ensayos de Cloruro Férrico	79
FOTOGRAFÍA No. 10	Ensayo de Shinoda	80
FOTOGRAFÍA No. 11	Ensayo de antocianidinas	80
FOTOGRAFÍA No. 12	Ensayo de espuma	80
FOTOGRAFÍA No. 13	Ensayo de Fehling	81
FOTOGRAFÍA No. 14	Lectura del Extracto etanólico.....	81
FOTOGRAFÍA No. 15	Lectura del Estándar	81
FOTOGRAFÍA No. 16	Cromatografía de capa fina para flavonoides	82
FOTOGRAFÍA No. 17	Cromatografía de capa fina para alcaloides.....	82
FOTOGRAFÍA No. 18	Grupos experimentales ratas.....	83
FOTOGRAFÍA No. 19	Pesos de los grupos de experimentación	83
FOTOGRAFÍA No. 20	Disoluciones del extracto de Allpa atsera	84
FOTOGRAFÍA No. 21	Inducción del edema plantar en ratas	84
FOTOGRAFÍA No. 22	Administración de los extractos vía oral	84
FOTOGRAFÍA No. 23	Medición del volumen plantar.....	85
FOTOGRAFÍA No. 24	Eutanasia de ratas con CO2	85
FOTOGRAFÍA No. 25	Disección de las ratas	85
FOTOGRAFÍA No. 26	Extracción de los órganos internos a investigar	86
FOTOGRAFÍA No. 27	Órganos extraídos a investigar	86
FOTOGRAFÍA No. 28	Órganos en formol al 10%: riñón, hígado y estómago de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	86
FOTOGRAFÍA No. 29	Placas fijadas del riñón, hígado y estómago para la observación microscópica	87
FOTOGRAFÍA No. 30	Examen histopatológico del riñón, hígado y estómago de ratas	87

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Materia prima	76
ANEXO No. 2	Obtención de los diferentes extractos	76
ANEXO No. 3	Control de calidad de la droga cruda de Allpa atsera.....	77
ANEXO No. 4	Control de calidad del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>).....	78
ANEXO No. 5	Tamizaje fitoquímico de las hojas y tallo (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>).....	79
ANEXO No. 6	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales.....	81
ANEXO No. 7	Cromatográfico de flavonoides	82
ANEXO No. 8	Análisis cromatográfico de alcaloides	82
ANEXO No. 9	Evaluación de la actividad antiinflamatoria de <i>Lepidium bipinnatifidum</i>	83
ANEXO No. 10	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de Allpa atsera (<i>Lepidium bipinnatifidum</i>)	85
ANEXO No. 11	Análisis macroscópico de los órganos de los animales de experimentación ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	86
ANEXO No. 12	Análisis histopatológico del riñón, estómago e hígado de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	87
ANEXO No. 13	Cuantificación de flavonoides totales utilizado como estándar la rutina diferentes concentraciones. Laboratorio de Química Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. MAYO 2014.....	88
ANEXO No. 14	Extracción sucesiva de la materia prima para la aplicación de diferentes pruebas. Laboratorio de Química Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. MAYO 2014.....	89

INTRODUCCIÓN

Las lesiones que se producen en los tejidos vascularizados produce varios sucesos, que pueden ser dinámicos o complejos llamados en forma general inflamación. (CAMERON, Michelle. 2009). La inflamación es una respuesta protectora que interviene en la reparación de los tejidos o vasos dañados, mediante la destrucción o el bloqueo del agente causal. Sin embargo, cuando el agente inflamatorio persiste, provoca la destrucción tisular y la formación de tejido fibroso originándose un proceso inflamatorio crónico. (KUMAR, Vinay y otros. 2008)

En ocasiones la inflamación se oculta entre las causas más importantes de muerte en el mundo, con sus diversas formas y manifestaciones. Además, forma parte del desarrollo de enfermedades que no pueden ser mortales, pero que producen sufrimiento e incapacidad, dando paso a enfermedades degenerativas y a la búsqueda de tratamientos, como el uso de fármacos. (CÁSCALES, María y otros. 2007)

Por lo que hoy en día el uso y el abuso de los fármacos, como los antiinflamatorios, analgésicos, y antipiréticos es tan amplio como, la cantidad de información que recibimos anualmente sobre estos. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003)

Siendo los antiinflamatorios no esteroides (AINES) los medicamentos más utilizados, debido a su efectividad comprobada como un desinflamatorio, que en ocasiones las personas minimizan los efectos adversos que estos producen. Estos fármacos también son utilizados como analgésicos para aliviar el dolor, ya sea intenso o moderada, debido a que bloquea la biosíntesis de las PG. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003)

Los AINES como antipiréticos disminuyen la temperatura en estado febril, ya que las isoformas de la ciclooxygenasa-2 intervienen en la termorregulación. Sin embargo los antiinflamatorios no esteroides tienen efectos adversos indeseables, siendo el más frecuente las úlceras gástricas y problemas cardiacos, pero el abuso de los diferentes antiinflamatorios puede producir daños renales por su uso prolongado. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003)

Actualmente los AINES es un problema que se vive en países (como América Latina) que están en vías de desarrollo. Investigaciones de la Asociación de la Industria Farmacológica Británica mostraron que de los 315 millones de fármacos vendidos sin receta médica el 35-40% eran para pacientes adultos mayores, es por ello que la falta de información de los prescriptores y los usuarios en cuanto al uso de los medicamentos y de sus potenciales efectos adversos constituyen un problema que cada día va creciendo. (GUILLEN, Gabriela y otros. 2014)

Como alternativa, las plantas medicinales, desde hace años han sido empleadas para tratar problemas relacionados con la salud. Utilizando las plantas como tratamientos ya sea para calmar o para evitar las molestias, que produce una enfermedad. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003). En el Ecuador las causas de la utilización de plantas medicinales están relacionadas a varios factores, tales como la cotidianidad de las personas, el coste de medicamentos efectivos y sobre todo los efectos secundarios que producen ciertos medicamentos económicos. (TORRE, Lucia y otros. 2008). Es por ello, que la población Ecuatoriana requiere de otras alternativas terapéuticas.

Por lo cual se ha tomado como un tema de investigación a la planta herbácea *Lepidium bipinnatifidum*, es una hierba que crece anualmente, presenta una simple raíz de 10 centímetros de largos sus hojas son alternas, pinnatilobadas, con una inflorescencia en racimos, su fruto es alargado en cápsula formados por dos carpelos. Crece en verano y en laderas de cerros. (LINARES, Eliana. 1995).

Por su propiedad es utilizada en medicina indígena contra las hemorragias y se emplea oliéndola (LINARES, Eliana. 1995) y en infusión para la mala circulación de las venas del cerebro y para el dolor de cabeza. (MARÍN, Bladimir. 2014). La Sra. María Rosa Acero Zaruma de 42 años de edad y la Sra. María Griselda Pizha Pinguil de 65 años de la provincia del Cañar utilizan la Allpa atsera para aliviar los dolores del sobrepeso y otros dolores, al igual que en la provincia de Chimborazo la Sra. Natividad Paca Paca de 69 años de edad, ha utilizado con el mismo fin.

Por lo que ha hecho que priorice esta investigación, en el estudio de la especie de *Lepidium bipinnatifidum* por su empleo en problemas relacionados con procesos inflamatorios.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. INFLAMACIÓN

1.1.1. INTRODUCCIÓN

Inflamación es un nombre genérico que abarca una serie de reacciones en el tejido conjuntivo vascularizado como un impulso a una agresión exógena o endógena. En estas reacciones participan células y factores solubles, que son denominados mediadores inflamatorios. (MARTÍN, Duce. 2005)

La inflamación y la inmunidad, son el mecanismo más importante de defensa en la supervivencia de organismos pluricelulares. Mediante la respuesta protectora a una lesión celular. El estímulo que produce la lesión celular a la vez, es el desencadenante de una inflamación, que está orientada a la neutralización o eliminación de la causa inicial de la lesión. (ORDI, Jaume. 2012)

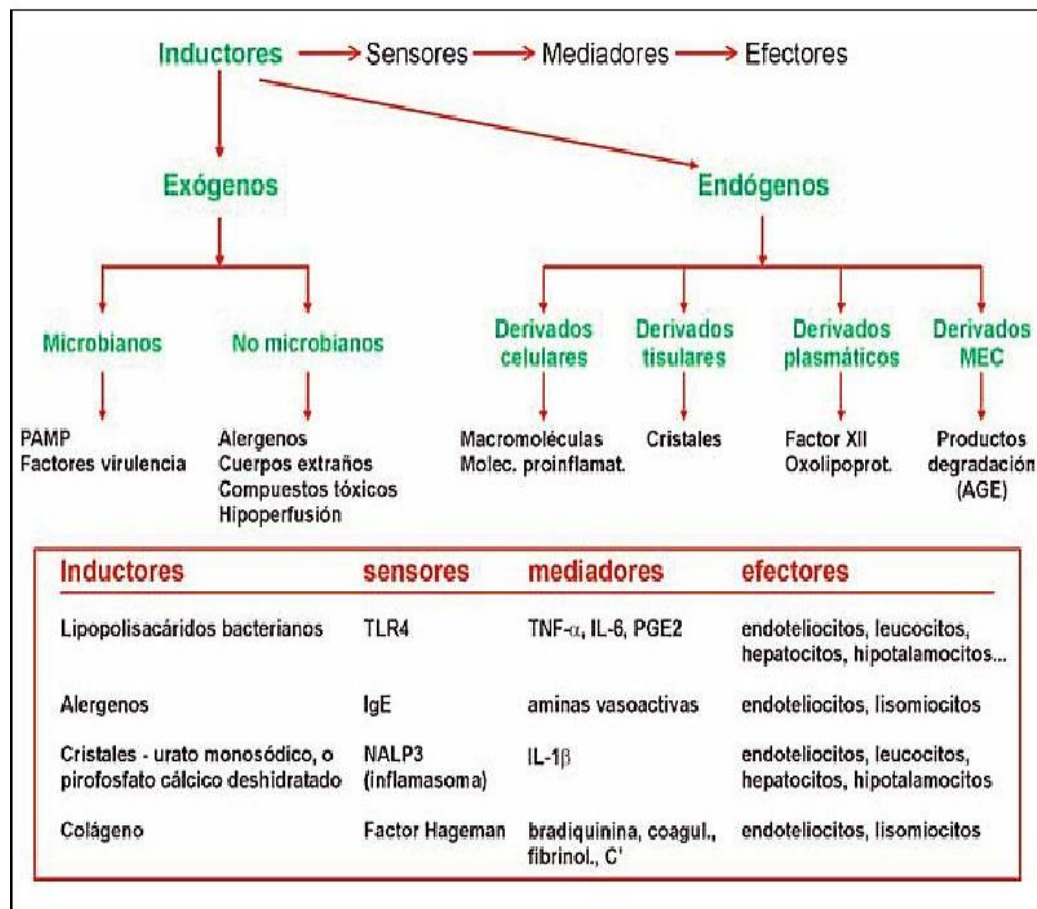
1.1.2. DEFINICIÓN

La inflamación es una respuesta del organismo, frente a una agresión física, infecciosa o autoinmune, que produce una serie de reacciones contra el agente causal, para la reparación de tejidos o bazos dañados producidos por estos, mediante la identificación, aislamiento y eliminación del agente agresor. La reacción antiinflamatoria está formada por varias interacciones celulares. (KUMAR, Vinay y otros. 2008)

Los procesos inflamatorios que se dan en el organismo, son medios de defensa contra agentes agresores, que pueden desarrollar una respuesta o reacciones. A simple vista se puede observar mediante los signos clínicos que son, edema, dolor y eritema. (ROJAS, Montoya. 2004).

La inflamacion se produce con la finalidad de:

- a) Destruir, atenuar o mantener localizado al agente patogeno.
 - b) Iniciar una cadena de acontecimientos que ayuden a curar y a reconstruir el tejido lesionado.
 - c) Evitar que las infecciones se propaguen de forma incontrolada.
- (GUIAINFLAMACIÓN. 2011)



FUENTE: GARCÍA, Pedro. Inflamación. 2008

FIGURA No. 1 VÍA INFLAMATORIA GENÉRICA

1.1.3. LAS CAUSAS Y LOS EFECTOS DE LA INFLAMACIÓN

Las causas de una inflamación son los mismos que producen lesiones en los tejidos: además de las infecciones, que desde el punto de vista médico son las más importantes y frecuentes, que también producen reacciones inflamatorias, los agentes físicos (como radiaciones ionizantes, temperaturas extremas, etc.), traumatismos, agentes químicos (bases, ácidos, etc.), tejidos necrosados, reacciones inmunológicas, cuerpos

extraños, etc. Siendo los gérmenes patógenos una de las causas más frecuentes de la inflamación originada por una infección debido a la invasión de estos en el organismo. (ORDI, Jaume. 2012)

Los efectos de la inflamación son favorables, debido que eliminan el agente causal del daño o, al menos aíslan, inactivan o bloquean. Otro efecto importante es la reparación de tejidos lesionados. Sin embargo, el proceso inflamatorio en ocasiones puede tener efectos contraproducentes, por ejemplo; en algunos glomerulonefritis destruyen de forma definitiva la compleja y delicada estructura de los glomérulos renales produciendo insuficiencia renal. Por otra parte, una vez que ha sido reparada la lesión por el proceso inflamatorio, pueden quedarse secuelas (como estenosis, retracción, predispuesto a padecer un nuevo daño en la misma zona, etc.). (ORDI, Jaume. 2012)

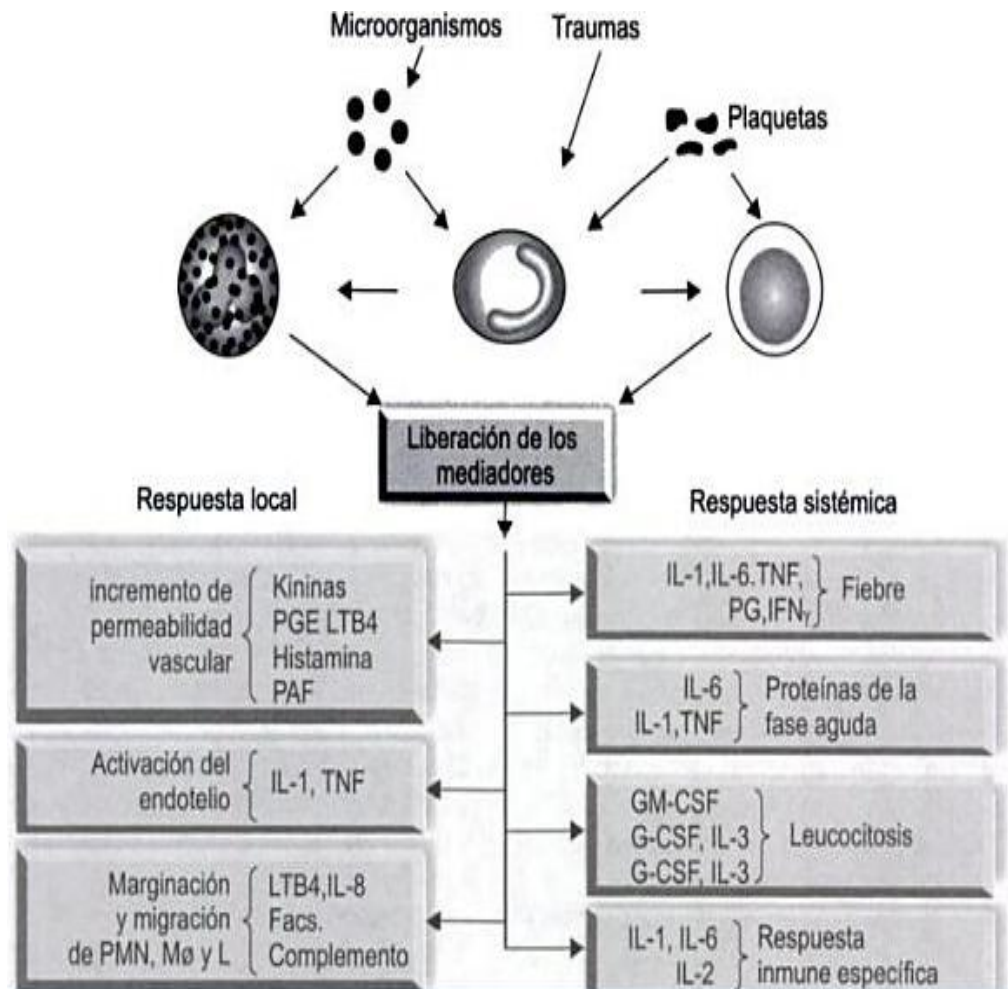
Es por estos motivos que en determinados casos justifica la administración terapéutica o profiláctica de medicamentos antiinflamatorios, con la finalidad de reducir y prevenir posibles complicaciones. (ORDI, Jaume. 2012)

1.1.4. PROCESOS DE LA INFLAMACIÓN

Los procesos inflamatorios puede ser sistémico o local.

Local: aquí participan los sistemas de la coagulación, de Kininas y de complemento, produciendo eliminación de líquidos, vasodilatación, hinchazón, aumento de la temperatura y afluencia de células sanguíneas hacia los tejidos lesionados. (ROJAS, Montoya. 2004).

Sistémica: se da por cuadros febriles, aumento de proteínas del hígado y leucocitosis. También se da variaciones endocrinas, “*aumento del catabolismo protéico y de la gluconeogenesis*”. En la Figura 2, se puede ver los componentes de la respuesta local y sistémico del proceso inflamatorio. (ROJAS, Montoya. 2004).



FUENTE: ROJAS, Montoya. 2004. *INMUNOLOGIA*

FIGURA No. 2 COMPONENTES DE LA RESPUESTA LOCAL Y SISTÉMICO

1.1.5. FAGOCITOSIS

La fagocitosis y la liberación de enzimas por los neutrófilos y macrófagos que constituyen dos de los principales efectos beneficiosos de la acumulación de leucocitos en el foco de inflamación. La fagocitosis se lleva a cabo a través de tres pasos. (GUIAINFLAMACIÓN. 2011)

1.1.5.1. Reconocimiento y fijación

En ocasiones, los neutrófilos y los macrófagos reconocen y fagocitan bacterias y cuerpos extraños en ausencia de sueros, sin embargo, la mayor parte de los microorganismos no son reconocidos hasta que no están recubiertos de factores naturales denominados opsoninas.,que se unen a receptores específicos situados en

los leucocitos, esta opsonización de partículas como bacterias incrementan de forma importante la eficiencia de la fagocitosis. Las opsoninas más importantes son:

- a) El fragmento fc de la inmunoglobulina G.
- b) El C3b (componente del complemento).
- c) Las proteínas plasmáticas de fijación de carbohidratos(lecitinas).

(GUIAINFLAMACIÓN. 2011)

1.1.5.2. Englobamiento

La fijación de la partícula opsonizada al receptor fc y r es suficiente para poner en marcha el englobamiento, proceso que se intensifica de forma importante en presencia de los receptores del complemento. Durante el englobamiento, el citoplasma emite extensiones (PSEUDOPODOS) que rodean a la partícula que va a ser fagocitada, proceso que finalmente hace que la partícula quede incluida completamente en el interior de un fagosoma cuya membrana precede la membrana citoplasmática de la célula, posteriormente, la membrana limitante de esta vacuola fagocítica se fusiona con la de un gránulo lisosomal, de manera que el contenido de este último se descarga en el fagolisosoma. (GUIAINFLAMACIÓN. 2011)

1.1.5.3. Destrucción o degradación

El paso final en la fagocitosis de las bacterias es su destrucción y degradación. La destrucción de las bacterias se consigue principalmente por mecanismos dependientes del oxígeno a través del aumento de el consumo de oxígeno, la glucogenólisis, el aumento en la oxidación de la glucosa a través de la derivación hexosamonofosfato, y la producción de metabolitos reactivos del oxígeno. Además por mecanismos independientes del oxígeno como por la acción de sustancias contenidas en los gránulos de los leucocitos (proteínas bactericidas, la lactoferrina, la proteína básica principal y las defensinas). Tras su destrucción, las bacterias son degradadas en el interior de los fagolisosomas por acción de las hidrolasas ácidas de los gránulos azurófilos. (GUIAINFLAMACIÓN. 2011)

1.1.6. CÉLULAS DE LA INFLAMACIÓN

1.1.6.1. Mastocitos y basófilos

Los mastocitos y los basófilos son células provenientes de la misma familia que contienen heparina, histamina y otras enzimas, estos se degranulan cuando se unen a las inmunoglobulinas (IgE) específicas de superficie y el antígeno correspondiente de hipersensibilidad. También se origina la degranulación cuando los mastocitos/basófilos tienen relación con definidas fracciones del complemento, como por la acción de ciertos mediadores químicos de la inflamación que se encuentran presentes en el foco inflamatorio y en traumatismos. (ORDI, Jaume. 2012)

1.1.6.2. Neutrófilos

Los neutrófilos son las primeras líneas protectoras contra los patógenos, es por ello que son células típicas de la inflamación aguda. Estas células tienen una vida corta que circulan en la sangre unos pocos días, atraviesan las paredes vasculares y se trasladan por los tejidos en respuesta a los estímulos provenientes del foco originado por gérmenes, tejidos lesionados u otras células inflamatorias.

El conjunto formado por los neutrófilos degenerados, gérmenes en el foco inflamatorio y restos celulares necróticos forman el pus. (ORDI, Jaume. 2012)

La función de los neutrófilos es la eliminación de tejidos destruidos y la fagocitosis de bacteriana. La fagocitosis es la ingestión de partícula y su posterior eliminación por parte de células viables. La fagocitosis se caracteriza morfológicamente por una variedad de cambios celulares. (ORDI, Jaume. 2012)

- a) Adhesión de la bacteria o partícula previamente opsonizada.
- b) Englobamiento de la bacteria o partícula por expansiones pseudopódicas de la superficie de los leucocitos.
- c) Internalización de bacteria/partículas originándose una vacuola fagocítica en el citoplasma de la célula fagocítica.
- d) Unión de los lisosomas citoplasmáticos con el fagosoma.
- e) Desintegración parcial o total de la bacteria o partícula. (ORDI, Jaume. 2012)

1.1.6.3. Fibroblastos

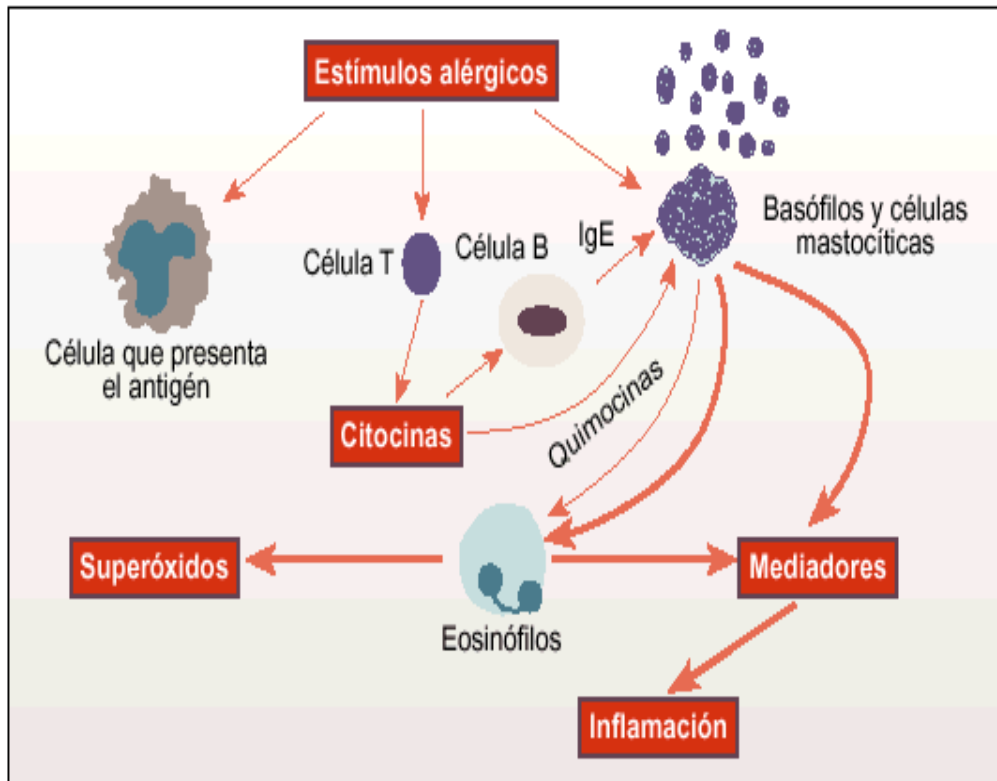
Los fibroblastos son células que proliferan *in situ* en el foco inflamatorio, cuando la inflamación aguda y en especial la inflamación crónica están en fases avanzadas. Los fibroblastos son importantes en las reparaciones de lesiones y son los responsables de la cicatrización. (ORDI, Jaume. 2012)

1.1.6.4. Linfocitos y las células plasmáticas

Los linfocitos llegan al lugar de la inflamación en escasa cantidad y cuando la reacción inflamatoria está en fases avanzadas. Los linfocitos se movilizan por las reacciones inmunológicas. Siendo los linfocitos de tipo T estimulados por enfermedades granulomatosas, crónicas autoinmunes y por virus y los de tipo B son predominantemente por infecciones bacterianas. Las células plasmáticas aparecen en el foco inflamatorio ya en las fases avanzadas de la inflamación aguda, siendo más prolífico en las inflamaciones de origen vírica e inmunológica y en inflamaciones crónicas. (ORDI, Jaume. 2012)

1.1.6.5. Las células endoteliales

Las células endoteliales forman un papel importante en la respuesta inflamatoria, participan en fases diferentes. En la fase inicial, está implicada en la emigración y la adhesión de los leucocitos y en fenómenos de trasudación y exudación de diferentes células de la sangre y moléculas a los tejidos dañados. En las etapas avanzadas, la proliferación de células endoteliales a partir de vasos próximos al sitio de la inflamación, ayudan a la restauración de lesiones mediante la construcción del tejido de granulación. (ORDI, Jaume. 2012)



FUENTE: Actividad antiinflamatoria http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=37&id=13054411

FIGURA N° 3: RUTAS PRINCIPALES DE INFLAMACIÓN ALÉRGICA

1.1.7. FASES DE LA INFLAMACIÓN

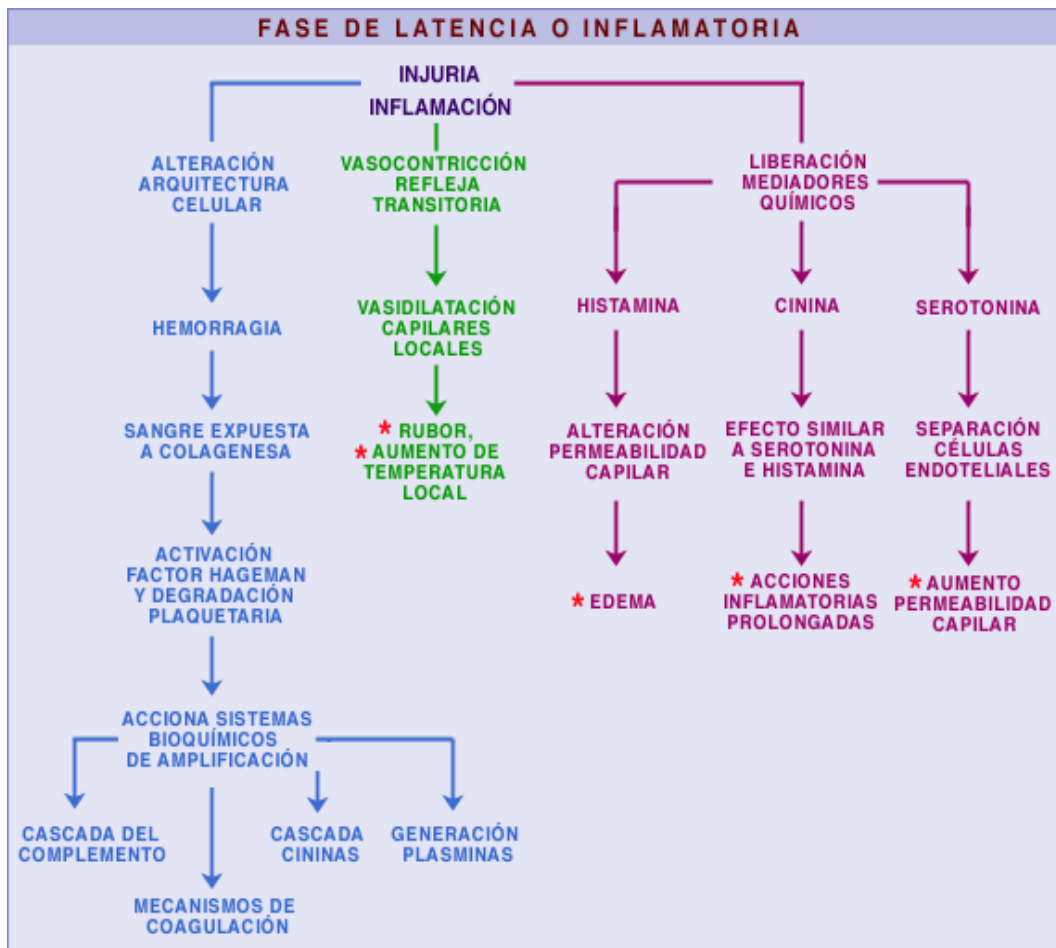
Cuando los microorganismos entran en el organismo humano induce en éste a una respuesta o reacción inflamatoria cuyas propiedades dependen de:

- La patogenicidad del agente o microorganismo invasor.
- Capacidad de responder del organismo invadido. (ARIAS, Jaime. 1999)

El resultado de esta interacción es verdaderamente una batalla y otras veces una coexistencia casi pacífica, que en ocasiones se manifiestan respectivamente en dos prototipos de respuesta inflamatoria que son: inflamación aguda y crónica. Estos dos tipos de respuesta inflamatoria están constituidos por tres diferentes fases: (ARIAS, Jaime.1999)

- **Fase nerviosa o inmediata:** En esta fase predominan síntomas y signos nerviosos sensitivos (como dolor, analgesia) y los motores (como contracción y relajación).

- **Fase inmune o intermedia:** Esta fase se caracteriza por la invasión molecular (edema), celular (células sanguíneas) y bacteriana.
- **Fase endocrina o tardía:** En esta fase hay predominio del anabolismo y sobretodo la reconstrucción tisular (regeneración y cicatrización) si el cambio es favorable. (ARIAS, Jaime.1999)



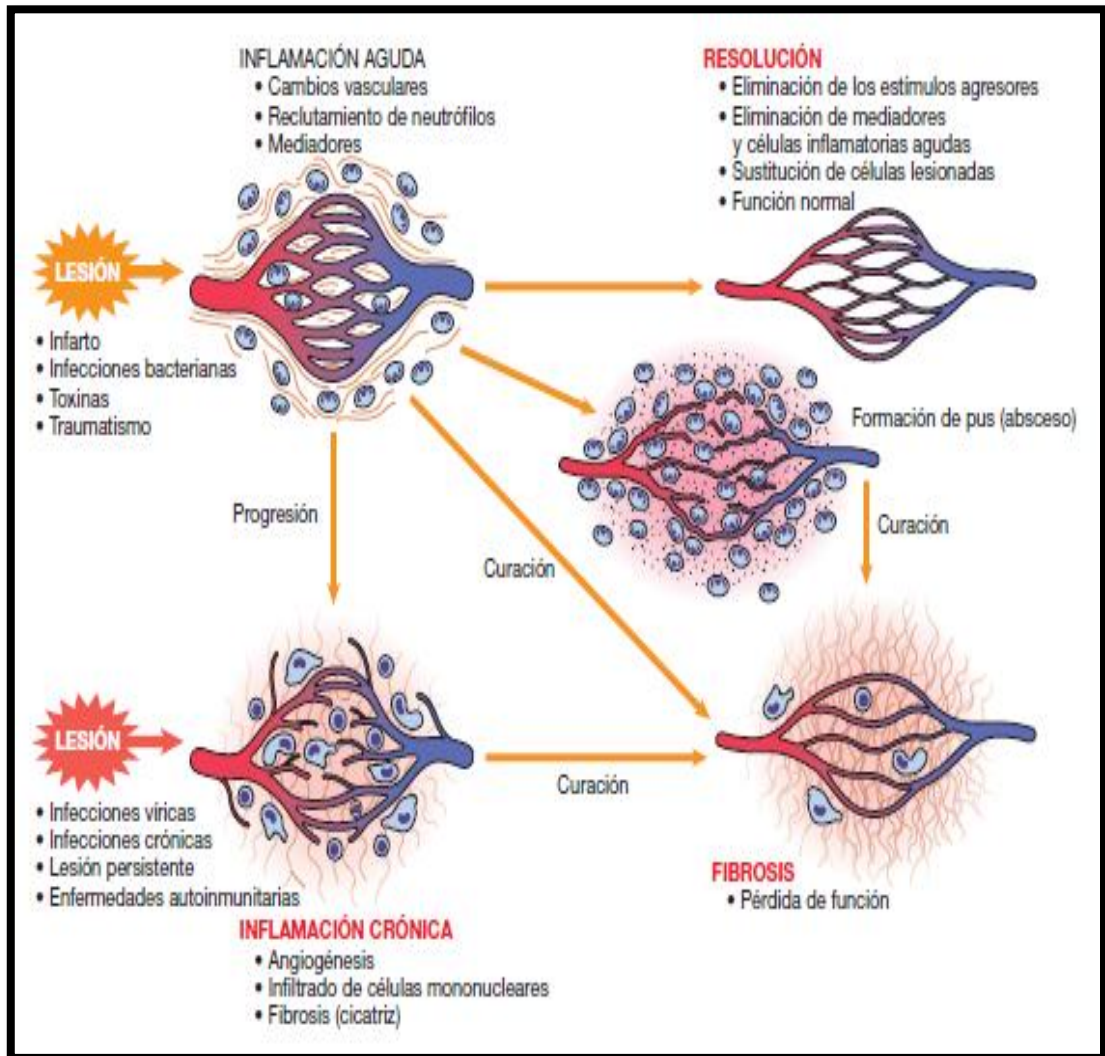
FUENTE: http://www7.uc.cl/sw_educ/minoquemado/html/mod4/cicatriz.html

FIGURA N° 4: FASE INFLAMATORIA O DE LATENCIA

1.1.8. CLASIFICACIÓN DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación se clasifica como inflamación aguda o inflamación crónica, dependiendo de los tipos de leucocitos que prevalecen en ella. En la inflamación aguda un primer signo que aparece habitualmente durante las primeras etapas de infección, es la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales que tapizan a los vasos sanguíneos pequeños. Luego, los neutrófilos insertan pseudópodos entre las

células endoteliales y migran al espacio. Finalmente pasan hacia el sitio de la inflamación a través de la membrana basal. (INGRAHAM, John y otros.1992)



FUENTE: <http://belenjamepatologia.blogspot.com/>

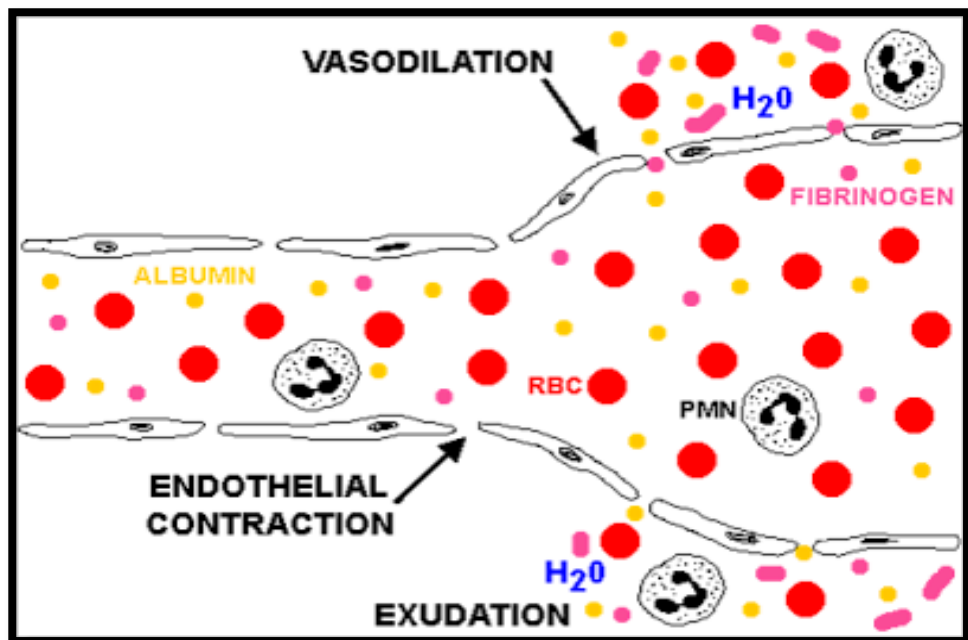
FIGURA N° 5: TIPOS DE INFLAMACIÓN

La inflamación crónica tiene lugar mientras existan muchas infecciones persistentes, caracterizada por un gran número de linfocitos dentro del tejido. Los términos inflamación aguda e inflamación crónica no son mutuamente excluyentes. (INGRAHAM, John y otros.1992)

1.1.8.1. Inflamación aguda

La inflamación aguda es una respuesta rápida del hospedador que se utiliza para acercar a las proteínas plasmáticas y leucocitos como los anticuerpos, al lugar de la infección. La inflamación aguda normalmente dura no más de dos semanas. Esta inflamación está formada por tres componentes principales: (KUMAR, Vinay y otros. 2010)

- **Cambios vasculares:** alteración del calibre de los vasos que producen el incremento del flujo sanguíneo (vasodilatación) y aumento de la permeabilidad vascular.
- **Modificación de la estructura:** los microvasos proporcionan la salida de la circulación de los leucocitos y de las proteínas plasmáticas.
- **Acontecimientos celulares:** migración de los leucocitos desde la microcirculación, depósito de los mismos en el foco de la lesión y activación para la eliminación del agente lesivo. (KUMAR, Vinay y otros. 2010)



FUENTE: <http://resumenmedicina.blogspot.com/2012/04/inflamacion-aguda.html>

FIGURA N° 6. INFLAMACIÓN AGUDA

- **Signos de la inflamación aguda**

Los signos de la inflamación aguda son los siguientes:

- Calor
- Enrojecimiento (rubor)
- Tumefacción
- Dolor
- Pérdida de la función

Estos signos se dan de manera rápida gracias a la respuesta vascular y a los acontecimientos celulares que son característicos de la inflamación. La función principal de estas alteraciones es lograr que los elementos del sistema inmune alcancen el lugar de la lesión y prevenir lesiones posteriores. (ATUL, Anand. 2011)

Si la inflamación continua dura más de cuatro semanas es denominada inflamación subaguda. La inflamación crónica puede durar meses e incluso años. (CAMERON, Michelle. 2009)

1.1.8.2. Inflamación crónica

La inflamación crónica es crecimiento simultáneo de la inflamación activa, la curación y la muerte del tejido. Patológicamente la inflamación crónica se caracteriza, por producir una mayor destrucción tisular que en la inflamación aguda y por la presencia en el lugar de inflamación de fenómenos reparativos que no pueden entrar a completarse debido a la actividad inflamatoria y a la persistencia del agente causal. (ORDI, Jaume. 2012)

La inflamación crónica puede surgir en una de las dos vías: la primera sigue a la inflamación aguda, pudiendo ser el resultado de una persistencia del agente lesivo o por una interferencia con la evolución normal de curación. La segunda es el resultado de la respuesta inmune frente a un material extraño (como una sutura o implanta), o frente a un tejido huésped alterado, o como el resultado de una enfermedad autoinmune (como artritis reumatoide). (CAMERON, Michelle. 2009)

– **Tejido de granulación e infiltración mononuclear**

La inflamación crónica está marcada por:

- a) Los linfocitos
- b) Las células plasmáticas
- c) Macrófagos (para la fagocitosis); y ciertos macrófagos se dividen y forman células gigantes multinucleadas. (ATUL, Anand. 2011)

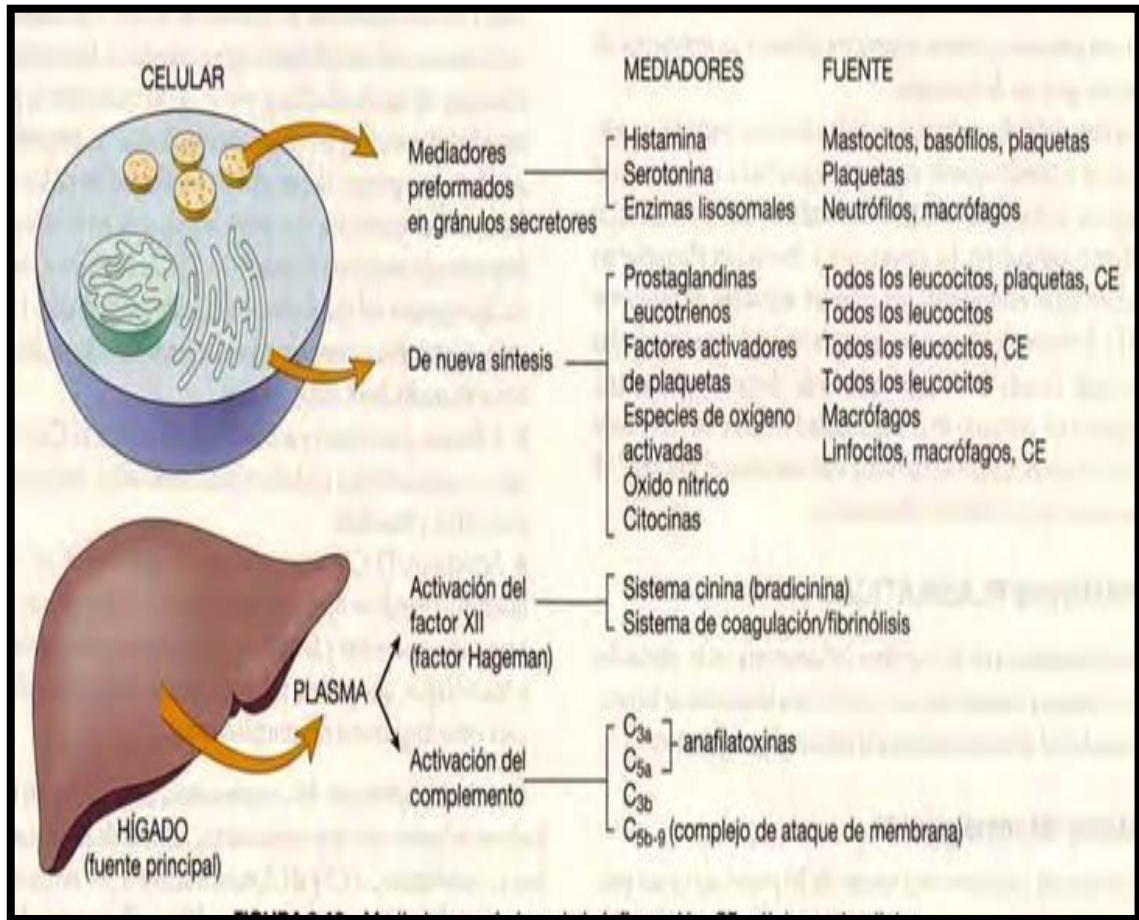
Los macrófagos del tejido inflamados se forman por transformaciones de monocitos presentes en la sangre. El número de macrófagos se incrementa de forma gradual durante la inflamación aguda hasta llegar a tener el tipo dominante en la crónica. (ATUL, Anand. 2011)

Estos macrófagos se activan innumerables estímulos, incluyendo el interferón gama (IFN γ), que es originado por los linfocitos activados. Los macrófagos van eliminando de forma progresiva el tejido lesionado mediante fagocitosis y producen sustancias biológicas activas que ayudan en la reparación mediante fibrosis. Esto facilita la lenta sustitución del tejido lesionado por el tejido de granulación. (ATUL, Anand. 2011)

1.1.8.3. Mediadores químicos de la inflamación

Distintos sistemas de mediadores inflamatorios interaccionan para producir inflamación. Pero ningún mediador químico puede ser responsable de forma aislada de ninguna característica de respuesta inflamatoria.

Existen mecanismos reguladores en todos los sistemas de mediadores. (ATUL, Anand. 2011)



FUENTE: <http://slideplayer.es/slide/2343644/>

FIGURA N° 7. MEDIADORES QUÍMICOS.

- SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Esta secuencia en cascada de las proteínas séricas abarca más de veinte componentes; el producto que es activado de una proteína activa a la siguiente. Este sistema se puede activar de cuatro diferentes formas durante la respuesta inflamatoria aguda. (ATUL, Anand. 2011)

1. Células necróticas liberan unas enzimas capaces de activar el complemento.
2. Los complejos antígeno-anticuerpo activan al complemento por la vía clásica.
3. Las endotoxinas de bacterias gramnegativas activan al complemento por una vía alternativa.
4. Productos de los sistemas de las quininas y fibrinolítico activan el complemento. (ATUL, Anand. 2011)

QUININAS

Las quininas son pequeños péptidos vasoactivos (de unos 10 aminoácidos). El más conocido es la bradiquinina. Realiza sus acciones aumentando la permeabilidad vascular y provoca dolor. El sistema de las quininas es estimulado por el factor XII activo de la coagulación (que es el factor de Hageman). (ATUL, Anand. 2011)

ÁCIDO ARAQUIDÓNICO LEUCOTRIENOS Y PROSTAGLANDINAS

Durante la inflamación aguda, los fosfolípidos de la membrana de los mastocitos y neutrófilos se metabolizan para formar leucotrienos y prostaglandinas. La acción de los fármacos antiinflamatorios (ejemplo aspirina, glucocorticoides, y fármacos parecidos a la aspirina) se debe a su capacidad de inhibición de la producción de prostaglandinas. (ATUL, Anand. 2011)

AMINAS VASOACTIVAS

Se refiere a mediadores de la inflamación preformados que pueden ser liberados con rapidez por las células inflamatorias. Por ejemplo las histaminas, que son liberados luego de la desgranulación de los mastocitos. La histamina produce aumento de la permeabilidad vascular y vasodilatación arteriolar. (ATUL, Anand. 2011)

CITOSINAS

Las citosinas son mensajeros químicos que actúan a una corta distancia (paracrina y/o autocrina) mediante uniones a receptores específicos del exterior de las células diana. Que incluye: (ATUL, Anand.2011)

- Linfocinas: citosinas que son producidas por los linfocitos.
- Monocinas: citosinas que son producidas por macrófagos/monocitos.
- Interleucinas: citosinas que actúan entre los leucocitos.
- Interferones: inhiben la replicación de virus dentro de las células y activan a las células citolíticas naturales (NK) y a los macrófagos.

- Factores de necrosis tumoral: destruye a las células tumorales, estimula el catabolismo del tejido muscular y adiposo, lo que provoca pérdida de peso.
- Factores de crecimiento (ATUL, Anand. 2011)

ÓXIDO NITRICO

El óxido nítrico (NO) es un potente vasodilatador que es liberado de los macrófagos y de las células endoteliales. Se origina por la acción de la sintasa del óxido nítrico sobre la L-arginina. El NO actúa como un regulador de la inflamación, disminuyendo de forma activa los efectos de otros mediadores proinflamatorios. (ATUL, Anand. 2011)

TABLA N°. 1 ACCIONES DE LOS MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

Origen	Mediador químico	Acción
Mastocitos, basófilos y plaquetas	Histamina	Vasodilatación arteriolar
Plaquetas	Serotonina	Similar acción
Neutrófilos, macrófagos	Enzimas lisosomales	Lesión tisular
Leucocitos y plaquetas	Prostaglandinas	Vasodilatación
Leucocitos	Leucotrienos	Quimiotaxis, activación de leucocitos
Leucocitos	Factor activador de Plaquetas	Quimiotaxis Permeabilidad de la pared vascular
	Especies activadas de oxígeno	Lesión tisular
Macrófagos	Óxido nítrico	Vasodilatación
Activación del factor XII (Hageman)	Coagulación y fibrinólisis	Lesión tisular
Activación del complemento	Anafilotoxinas (c3 y c5a)	Complejo de ataque de membrana

REPARACIÓN

Cuando las causas de la agresión han desaparecido o han sido eliminadas por la propia respuesta inflamatoria, se inician los procesos de reparación. Estos procesos integran la llegada a la zona de fibroblastos que van a proliferar y sintetizar colágeno, proliferación de células epiteliales y proliferación de vasos dentro de la herida. (GONZALES, Bordés. y otros. 2010)

1.2. TRATAMIENTOS Y CUIDADOS UTILIZADOS EN PROCESOS DE LA INFLAMACIÓN

Una buena estrategia terapéutica frente a un proceso inflamatorio se debe enfrentar desde dos puntos: por el un lado, tratamiento farmacológico general con administración de fármacos antiinflamatorios y por el otro lado con un plan de cuidados. Los cuidados locales (como forma, tamaño, localización de la lesión, infección, etc.) son de relevancia importante por su influencia directa en la evolución general del proceso inflamatorio. (MARTÍN, Duce. 2005)

1.2.1. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Existen diferentes tipos de fármacos empleados en tratamientos de dolores ya sea leve o moderado, en especial los del musculoesqueléticos. Entre los antiinflamatorios más utilizados son: AIE: Antiinflamatorios esteroideos y AINES: Antiinflamatoios no esteroideos. Las dos clases de fármacos producen sus efectos al inhibir la formación de eicosanoides. Sin embargo los AINES tienen la capacidad de inhibir la enzima COX-1,2 (ciclooxigenasa), la que tiene menor probabilidad de producir efectos adversos a nivel gástrico. (DANIEL, Horton. 2013)

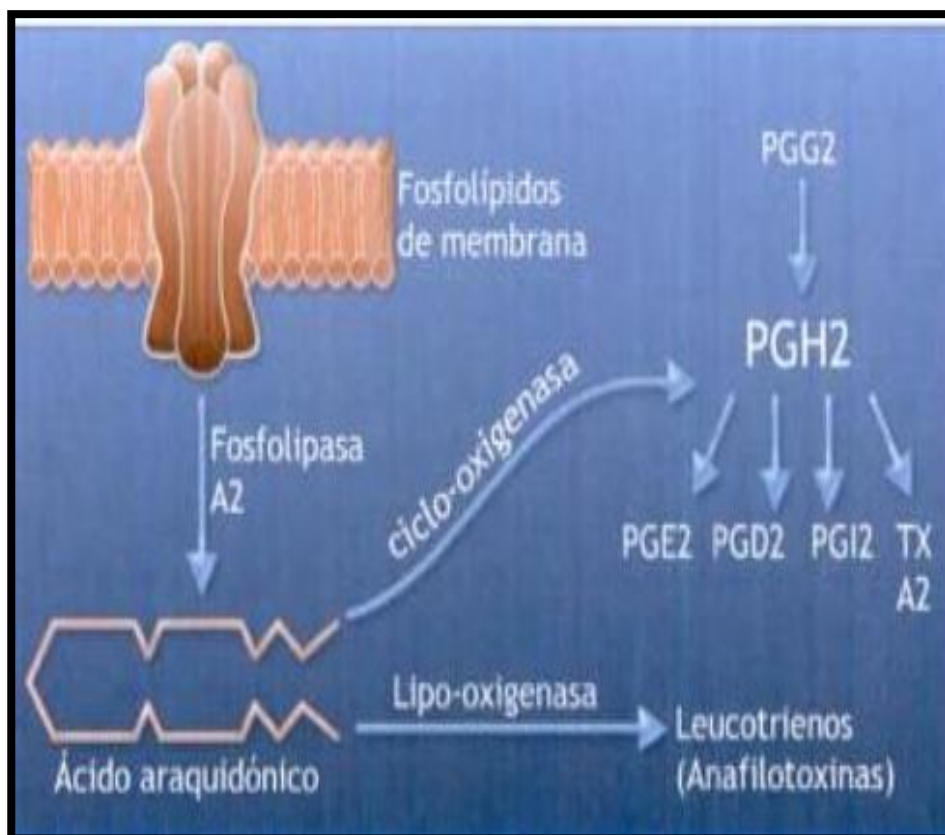
1.2.1.1. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Los AINES son un grupo heterogéneo de fármacos encargados de reducir la respuesta inflamatoria. La actividad farmacológica posee un amplio espectro, siendo lo más relevante la inhibición de la ciclooxigenasa (COX), tanto la tipo-1 como la tipo-2,

evitando así la producción de prostaglandinas (PG). También inhibe la activación de las células proinflamatorias. (AGUILAR, Juan. y otros.2008).

Las prostaglandinas son sustancias mediadoras de la inflamación, que son liberadas por los leucocitos y por los tejidos lesionados. La liberación de la prostaglandina (PGF_2 y PGE_2) provocan localmente vasodilatación, aumento de la sensibilidad de las terminaciones nerviosas y elevación de la permeabilidad capilar. (JOVER, Alejandro. y otros. 2003)

La isoenzima COX-1 es la responsable de múltiples funciones celulares, como la homeostasis vascular, citoprotección gástrica, función renal y agregación plaquetaria, también está presente en casi todos los tejidos. La isoenzima COX-2 es responsable de ciertas funciones fisiológicas renales, del aparato reproductor y vasculares. Los antiinflamatorios no esteroideos clásicos inhiben a los dos de modo inespecífico. (AGUILAR, Juan. y otros. 2008)



FUENTE: MENDOZA, Patiño. Farmacología médica. 2008

FIGURA N° 8: BIOSINTÉSIS DE PROSTAGLANDINAS Y LEUCOTRIENOS

ACCIONES FARMACOLÓGICAS DE LOS AINES

- **Acción analgésica:** reducción la susceptibilidad de los receptores del dolor.
- **Acción antipirética:** inhibición de la síntesis de prostaglandina.
- **Acción antiinflamatoria:** inhibición de la síntesis de prostaglandina.
- **Acción antiagregante plaquetaria:** inhibición de la síntesis de tromboxano A₂.
(JOVER, Alejandro. y otros 2003)

EFFECTOS SECUNDARIOS DE LOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Los efectos adversos más comunes es la propensión a úlceras gastrointestinales, pudiendo darse una anemia por las hemorragias. A excepción de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), que no produce úlceras en el estómago. Los problemas que causan estos antiinflamatorios en el estómago se dan por dos mecanismos que son: (GOODMAN, Alfred. y otros. 2003)

- Los fármacos ingeridos producen difusión retrograda del ácido estomacal.
- La inducción al daño a nivel tisular.

Otros efectos que producen estos fármacos son la alteración en la agregación plaquetaria, problemas renales, un parto espontáneo, etc., debido al bloqueo de las prostaglandinas. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003).

TABLA N° 2: CLASIFICACIÓN DE LOS AINES

<p>SALICILATOS</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Acetilados</i>: ácido acetilsalicílico (AAS)• <i>No acetilados</i>: acetilsalicilato de lisina, diflunisal, fosfosal y salsalato
<p>NO SALICILATOS</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Ácidos arilcarboxílicos</i>:<ul style="list-style-type: none">- Ácidos antranílicos (fenamatos): ácido mefenámico y meclofenamato- Ácidos nicotínicos: clonixinato de lisina, ácido niflúmico, isonixina y morniflumato• <i>Ácidos arilalcanoicos</i>:<ul style="list-style-type: none">- Ácidos arilpropiónicos: ibuprofeno, dexibuprofeno, ketoprofeno, dexketoprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, butibufeno, iburproxam y fenbufeno- Ácidos fenilacéticos: diclofenaco, aceclofenaco y fentiazaco- Ácidos heteroarilacéticos o pirrolacéticos: tolmetina y ketorolaco- Ácidos indolacéticos: sulindaco, indometacina, acemetacina y proglumetacina• <i>Ácidos enólicos</i>:<ul style="list-style-type: none">- Pirazolonas: metamizol, fenilbutazona y piracinobutazona- Oxicams: meloxicam, piroxicam, lornoxicam y tenoxicam• <i>No acídicos</i>:<ul style="list-style-type: none">- Naftilalcanonas: nabumetona- Inhibidores selectivos de COX-2 (bencenosulfonamidas)<ul style="list-style-type: none">◆ De primera generación: celecoxib◆ De segunda generación: etoricoxib y lumiracoxib

FUENTE. AGUILAR Juan. Manual SERMEF de rehabilitación y medicina física. 2008

1.2.1.2. ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDEOS

Dentro de estos fármacos se encuentran dos grupos principales de corticoesteroides, los mineralocorticoides y los glucocorticoides. Los glucocorticoides, como el cortisol y la cortisona poseen una acción antiinflamatoria potente que son de gran utilidad en varias enfermedades; como en la artritis reumatoide, el asma bronquial, las enfermedades inflamatorias intestinales y afecciones inflamatorias de la piel. (DANIEL, Horton. 2013)

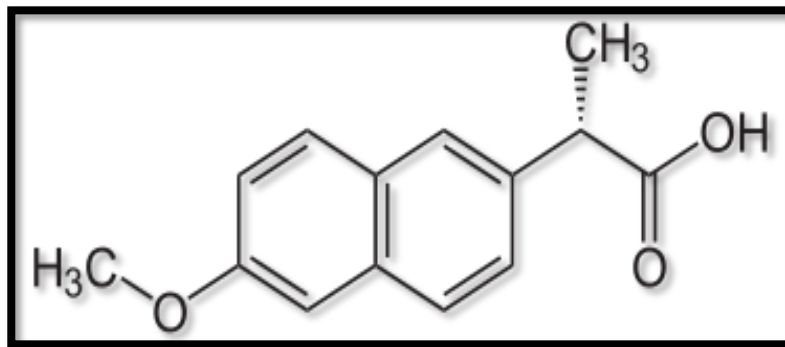
Tiene importantes efectos inhibidores de las respuestas inflamatorias son consecuencias de los efectos de los corticoesteroides que modifican la actividad de

ciertos genes de respuesta a corticoesteroides. La acción antiinflamatoria es debido a la consecuencia de:

- De la disminución de la producción de mediadores en la inflamación aguda, en especial de los Eicosanoides.
- La disminución del número y la actividad de las células inmunocompetentes circulantes, macrófagos y neutrófilos.
- Disminución de la actividad de los macrófagos y fibroblastos involucrados en estadios crónicos de la inflamación. (DANIEL, Horton. 2013)

1.3.NAPROXENO

El Naproxeno es un derivado del ácido propiónico, con los efectos clásicos de los AINES. Es completamente absorbido en dos horas luego de su administración oral aunque su absorción disminuye por los antibióticos y los alimentos. La vida media plasmática esta entre 12-15 horas. (TORRES, Luis. 2001)



FUENTE. GENNARO, Alfonso. Remington Farmacia. 2003

FIGURA N° 9: ESTRUCTURA DEL NAPROXENO

- **Descripción:** es un polvo cristalino blanco, de sabor amargo, se funde aproximadamente a 155°C, con un pK aparentemente de 4,15.
- **Solubilidad:** es totalmente soluble en agua a pH 8 o más y es insoluble en agua a pH 2, escasamente soluble en alcohol. (GENNARO, Alfonso. 2003)

1.3.1. FARMACOCINÉTICA

El naproxeno sódico luego de ser administrado por vía oral, es absorbido por completo, y se unen a las proteínas plasmáticas. La vida media del naproxeno en el plasma es de 14 horas y en personas de la tercera edad su cifra se incrementa dos tantos, por lo que se les hace ajustes en la dosis terapéutica. El naproxeno es eliminado como glucorónido a través de la orina al igual que casi todos sus metabolitos son excretados. (GOODMAN, Alfred y otros. 2003).

1.3.2. EFECTOS ADVERSOS

Los efectos secundarios más frecuentes son las úlceras gastroduodenal, perforación y hemorragia gastrointestinales. También producen efectos adversos en el sistema nervioso central produciendo cefaleas, somnolencia, fatiga y depresión. Está contraindicado en personas con problemas de difusión renal, con úlceras gastroduodenal, en personas con deshidratación, en niños menores de 12 años, etc. (DANIEL, Horton. 2013)

1.4. USO DE PLANTAS MEDICINALES

En la actualidad, los conocimientos tradicionales de las plantas medicinales y de medicina tradicional han recobrado un lugar importante en países desarrollados y, sobre todo en países en vías de desarrollo, como una alternativa para tratar enfermedades y ante el uso de medicamentos oficiales u convencionales en atención primaria de la salud. (PONZ, Elizabet y otros. 2005).

El conocimiento de la subsistencia de las plantas medicinales se deriva de los primeros intentos y errores humanos que intentaron utilizar las plantas. Hoy en día el consumo de plantas medicinales se ha extendido considerablemente alrededor del mundo. (YÁNEZ, Gabriela y otros. 2014)

La organización mundial de la salud (OMS) estima que un 80% de personas de países en vías de desarrollo emplean tradicionalmente plantas medicinales en necesidades primarias de salud. En general, la variedad de fauna y flora del Ecuador representan un alto porcentaje de biodiversidad. (YÁNEZ, Gabriela y otros. 2014)

Ecuador cuenta con centenares de plantas medicinales y aromáticas. Por ende en el país el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes. Se puede hallar grandes variedades de plantas con usos medicinales que se comercializa en mercados de la Costa, Sierra y Amazonia. (YÁNEZ, Gabriela y otros. 2014)

Los problemas de salud y la difícil consecuencia de los medicamentos sintéticos han llevado de nuevo a los pueblos a la búsqueda de la medicina tradicional; es así como el conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y día a día se ubica en un relevante lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que asegura seguridad, eficacia, bajos costos, siempre y cuando sea usado en forma adecuado y por personal calificado. (FONNEGRA, Ramiro y otros. 2007)

En el Ecuador la mayoría de plantas medicinales (47%) se registró en la categoría de los síntomas. Es decir, en el Ecuador la mayoría de plantas medicinales se usan para aliviar las manifestaciones de enfermedades que pueden ser o no diagnosticadas por el tratante o enfermo; así tenemos que el 13% de especies medicinales como las Solanaceae, Astareceae y Malvaceae son utilizadas como desinflamantes en general. (TORRE, Lucia y otros. 2008)

1.5. FAMILIA BRASSICACEAE

La familia Brassicaceae consta principalmente de hierbas y subarbustos, que en su mayoría son anuales, tal vez sea esa la razón por la cual han recibido poca atención por parte de los investigadores. (MONSALVE, Cristhian y otros. 2003)

Las Brassicaceae comprenden tricomas simples, estrellados con múltiples ramificaciones o bifurcados. Tallos verdosos o coloreados, delgados, típicamente herbáceos, en ocasiones leñosos, especies que crecen a grandes altitudes. Hojas de morfología variada, las caulinares, alternas o en ocasiones opuestas; las basales comúnmente dispuestas en rosetas; simples; con bordes enteros, ondeados, dentados o diversamente partidos. (MONSALVE, Cristhian. 2003)

Flores dispuestas en racimos terminales, comúnmente desprovistos de brácteas, hermafroditas, tetrámeras. Sépalos 4; dispuestos en dos series; pétalos 4, de color amarillos, blancos, rojos, lilas. Estambres 6; dispuestos en dos ciclos, el fruto de morfología variada, sus semillas de coloración variada, el embrión camoso, rico en aceites. (MONSALVE, Cristhian. 2003)

1.5.1. GÉNERO *Lepidium*

El género *Lepidium* comprende aproximadamente 175 especies, que se encuentran distribuidas prácticamente en todos los continentes, excepto en la Antártida, siendo una de las especies más grandes dentro de las crucíferas. Las especies de Australia, Europa y América del Norte han sido estudiadas ampliamente, pero se tiene muy poca información de las especies endémicas Andinas. (ARIAS, Ángela. 2002)

1.5.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

En la última década los científicos han centrado su interés en la identificación de los compuestos activos presentes en una especie de *Lepidium* (como de la *Lepidium meyenii*) el estudio llevado a cabo revelo que esta especie de *Lepidium* es un importante depósito de diversos ácidos grasos (linoleico, palmítico y oleico, etc), flavonoides, son pigmentos naturales que poseen efectos positivos como la acción antioxidante que depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y eliminación de radicales libres, compuestos fenólicos se les atribuye propiedades diuréticas, hemostáticas, antiinflamatorias, astringentes y anticancerígenas. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

Las saponinas son muy frecuentes en los vegetales y presentan propiedades antibacteriana, antimicótica, antiinflamatoria, antioxidante y anticancerígena. Las saponinas también tienen la propiedad de disminuir la proliferación celular de células tumorales e inducen apoptosis. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

1.5.3. *Lepidium bipinnatifidum* (ALLPA ATSERA)

- NOMBRES COMUNES DE *Lepidium bipinnatifidum*

Anuccara, anocara, chicchi, chiche, chichicara, chichira, mostacilla, mayo-mostaza.
(MONSALVE, Cristhian. 2003)



FUENTE. MONSALVE, Cristhian. Taxonomía y Distribución de Familia Brassicaceae en la provincia Huaylas. 2003

FIGURA N°10: *Lepidium bipinnatifidum*

- DESCRIPCIÓN

Sus raíces son pivotantes y bien profundas, sus tallos postrados como una roseta, de base leñosa y ancha. Las flores dispuestas en racimo terminales y son pequeñas, pedúnculos florales curvados y delgados, pétalos blancos, oblongos de 1.5 milímetros de largo. Sépalos elípticos de color púrpura o verdoso. Sus hojas son ovaladas y están dispuestas en roseta basal, sésiles, de 2 centímetros de ancho y 5 centímetros de largo, sus semillas son de color claro anaranjado. (MONSALVE, Cristhian. 2003)

- HÁBITAT

De origen neotropical, de variedades de climas característicos como cálidos a boreales o secos de suelos de color pardo y cálcicos. Se puede encontrar en los caminos, en áreas disturbadas o en pastizales o arbustos que se encuentran sobre laderas rocosas. (MONSALVE, Cristhian. 2003)

TABLA N° 3. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE ALLPA ATSERA

Especie	<i>Lepidium bipinnatifidum</i>
Reino	plantae
Phylum	pagnoliophyta
Clase	pagnoliopsida
Orden	papparales
Familia	brassicaceae
Género	Lepidium
Epitelio Especifico	bipinnatidum

FUENTE: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/CN/?controlador=ShowObject&accion=show&id=58995>

- USOS

La Allpa astera es utilizada como antiinflamatorio, disminuye los dolores en el parto de una mujer cuando está sufriendo mucho tiempo, antioxidante. (Acero, G. y otros. 1992). Estudios recientes han determinado que tiene propiedad oxiótica y antihemorrágica realizada por Ramírez Anchayhua, Huamán Natalia y Fajardo Carmen (2013), de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga de Inca”.

- COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GÉNERO *LEPIDIUM*

Las plantas producen un gran número de sustancias entre ellos los metabolitos secundarios que son utilizados por las personas para tratar una variedad de enfermedades. Aproximadamente el 25% de las drogas prescritas en el mundo se originan de plantas y se ha estimado que el 60% de las drogas antiinfecciosas y antitumorales son de origen natural. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

Mucho de estos metabolitos secundarios han demostrado presentar acciones farmacológicas y biológicas, siendo utilizados como agente quimioterapéuticos o es utilizado para el desarrollo de medicinas modernas. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

Los metabolitos secundarios presentes en plantas son elementos biológicos como los glucanos, ácidos grasos polinsaturados, esteroides, los alcaloides, taninos y flavonoides

(como la quercetina), varios de estos metabolitos secundarios han podido ser detectados en un género de *Lepidium*. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

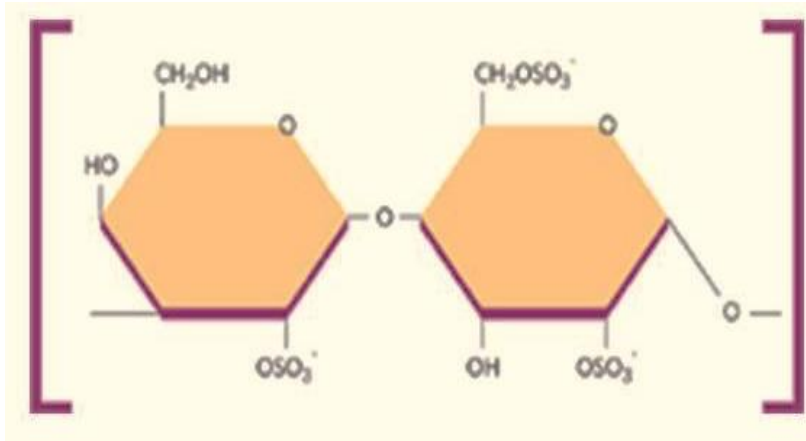
1.6. ESTUDIOS IN VIVO E IN VITRO

Los estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los metabolitos secundarios como los flavonoides pueden modular la actividad de las enzimas que intervienen en el proceso de formación de las células cancerígenas. En experimentos *in vitro* se ha confirmado el papel protector de la quercetina, siendo el flavonoide de mayor ingesta en la dieta humana, produciendo efectos de inhibición frente a las células cancerígenas de personas: en glándulas mamarias, región gastrointestinal, en colon, ovario y en leucemia. (GARCÍA, Jacquelin. 2010)

1.7. CARRAGENINA

La carragenina es un polisacárido, extraída de algas marinas de clase *Rodoficeas*, es un hidrocoloide que contiene mezclas de sulfato de potasio, ésteres, amonio con polímeros, sodio, calcio. Siendo tres copolímeros los más importantes de la carragenina y son; los iota-carragenina, kapa-carragenina y lambda-carragenina, esta tiene mayor solubilidad por lo que se disuelve por completo cuando presentan iones de calcio y potasio. Es por ello que son utilizados en Industrias farmacéuticas y alimentos. (GENNARO, Alfonso. 2003)

La *lambda-carragenina* es utilizada en estudios de actividad antiinflamatoria en ratas, por actuar como un estimulante químico, ya que reacciona con la COX-2 produciendo una respuesta proinflamatoria. La inflamación producida por COX-2, es rápida que puede aumentar de 10 a 80 veces más a nivel basal, por producción de la síntesis de prostaglandina por el bloqueo selectivo del COX-1. Mientras que el COX-2 solo “*inhibe la biosíntesis de prostaglandina*”, siendo una propiedad para los AINE. (GENARO, Alfonso. 2003)



FUENTE: <http://slideplayer.es/slide/1799755/>

FIGURA N° 11: ESTRUCTURA QUIMICA DE LA CARRAGENINA

1.8. *Rattus norvegicus* (Rata)

Las ratas son una especie de roedores que comenzaron a producirse con el objetivo de que sirvan de reactivos biológicos. Estos son roedores dóciles, cariñosos que se dejan manipular fácilmente de color blanco, con las extremidades de las patas y el iris rosáceas. (SÁIS, Laureano y otros. 1983.)

TABLA N° 4. TAXONOMIA DE LA RATA (*Rattus norvegicus*)

Nombre científico	<i>Rattus norvegicus</i>
Reino	animalia
Clase	aammalia
Familia	muridae
Orden	rodentia
Phylum	chordata
Genero	<i>Rattus</i>
Especie	<i>norvegicus</i>

FUENTE: HERNÁNDEZ, Yesica. Manejo y sujeción de roedores utilizados en el laboratorio. 2009

La utilización de los animales de laboratorio en investigaciones biomédicas representan un elemento importante en el desarrollo de nuevos avances en prevención y tratamientos de enfermedades no transmisibles y transmisibles. (HERNÁNDEZ, Silvia. 2006)

Estos animales para la investigación son reactivos biológicos, por lo que su pureza debe ser controlada, vigilada y contrastada, al igual que un reactivo sin descuidar su posible contaminación biótica. Por lo que se requiere la producción de animales “definidos o estandarizados” con características sanitarias y genéticas bien definidas, criados en un ambiente controlado respetando los requerimientos de la especie, con un correcto cumplimiento del bienestar animal y de los principios éticos en la investigación: “Rs”. Reducir, Remplazar y Refinar. (HERNÁNDEZ, Silvia. 2006)

Estos son los fundamentos para una inteligente y racional estrategia para minimizar el uso de animales y las causas de dolor y de *diestres*. Por lo que los proyectos de investigación que requieren el uso de animales de laboratorio deben realizarse con números mínimos necesarios de animales que permitan obtener resultados científicamente confiables. (HERNÁNDEZ, Silvia. 2006)

TABLA N° 5. DATOS FISIOLÓGICOS DE LA RATA (*Rattus norvegicus*)

EVENTOS	DATOS
Frecuencia respiratoria	66 - 144 por minuto
Frecuencia cardiaca	250 - 600 por minuto
Temperatura corporal	35.9 – 37.5 °C
Consumo de alimento	15 - 30 g por día, o 5 - 6 g por cada 100 g de peso corporal, por día de (Pellets)
Consumo de agua	24 - 60 ml por día, o 10 - 12 ml por cada 100 g de peso corporal por día (agua potable ad <i>libitum</i>)
Peso	Macho adulto: 300 -500 g Hembra adulta: 200 – 400 g Recién nacido: 5 g
Número de cromosomas	42
Orina	Amarilla y transparente
Heces	Color marrón, duras y alargadas con extremos redondeados.
Duración de vida	2.5 – 3.5 años de vida

FUENTE: HERNÁNDEZ, Yesica. Manejo y sujeción de roedores. 2009

- DETERMINACIÓN DEL SEXO DE LA RATA

La determinación del sexo se evalúa a través de la distancia entre el ano y la papila genital (anogenital), generalmente es mayor en el macho que en la hembra. En ratas adultas machos, sus testículos resalta prominentemente debajo de su cola. (HERNÁNDEZ, Silvia. 2006)

TABLA N° 6: CICLO BIOLÓGICO

EVENTO	DATOS
Gestación	21- 22 días
Número de las crías	6 -8 (E), menor a 6 (C)
La lactancia	Durante 21 días
El peso al destete	40 - 60 g
Edad a la pubertad	70 – 80 días
La madurez reproductiva	65 a 110 días
Vía productiva	365 días
Peso del adulto	20 a 500 g
Ciclo estral	4 a 5 días
Duración del estro	14 horas
Longevidad	2.5 años
C = animales consanguíneos	Cepas
E = animales exogámicos	Estirpe

FUENTE: HERNÁNDEZ, Yesica. Manejo y sujeción de roedores. 2009

TABLA N° 7: REQUISITOS AMBIENTALES DE LAS RATAS

EVENTO	DATOS
Humedad relativa	60 %
Temperatura	20 – 24 °C
Luz/oscuridad	12 – 14/10 – 12 horas
Ventilación	10 – 15 (cambios/hora)
Dimensiones mínimas del suelo al de sus cubetas	
Altura mínima de la cubeta	14 cm
Adulto alojado individualmente	350 cm
Animal con crías	800 cm

FUENTE: HERNÁNDEZ, Yesica. Manejo y sujeción de roedores. 2009

1.9.TOXICIDAD AGUDA

Esta prueba tiene como objetivo determinar los efectos adversos de una sustancia química tras la administración por vía oral o cutánea de una sola dosis o dosis repetida. Comúnmente, el punto final de estudio es la muerte del animal, la toxicidad aguda es expresada por Dosis Letal 50 (DL50), que representa la dosis de la sustancia que provoca la muerte de un 50 % de los animales empleados en el experimento y permite establecer la potencia de toxicidad de la sustancia, el otro 50 % que sobreviven es sacrificados para la determinación de diferentes parámetros de tejidos y órganos. (MENDOZA, Patiño. 2008)

La observación de los animales se realiza después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, posteriormente los animales son sacrificados y autopsiados para la observación de efectos locales. (MENDOZA, Patiño. 2008)

En teoría, el test DL50 facilita información de la cantidad de sustancia necesaria para tener efectos no deseados en las personas. Los resultados obtenidos de este test varían notablemente debido a las diferentes variables, como la cepa, el peso, la especie animal, la edad, el sexo, la dieta, el estado de salud, si el animal ha pasado un periodo de ayuno antes de la realización del test, el método de administración, el tipo de jaula, la temperatura del estabulario, etc. (ANIMANATURALIS. 2009)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- **Análisis del control de calidad de droga cruda:** en el laboratorio de Fitoquímica y análisis instrumental de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Evaluación de la Actividad antiinflamatoria:** en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Análisis histopatológico:** en el Laboratorio Histopatológico de SOLCA de la ciudad de Riobamba.

2.2. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

2.2.1. MATERIA PRIMA

La materia prima (hojas, tallos, flores y frutos), de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*), fue recolectada en la provincia del Cañar, Cantón el Tambo, Parroquia el Tambo, Comunidad Chuichun que se encuentra a una altitud de 2.366 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m), con un clima templado y una temperatura de 14 °C. (INIAP. 1995)

2.2.2. REACTIVO BIOLÓGICO

Para el estudio in vivo de la actividad antiinflamatoria de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) se utilizaron ratas (*Rattus norvegicus*).

2.2.2.1. Descripción

Nomenclatura: CrI. (WI) BR

Lugar de nacimiento: Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Edad: 3 – 4 meses

Peso promedio: 187 – 232 g

Sexo: Machos

2.2.2.2. Condiciones Ambientales

- Temperatura: 22 ± 2 °C
- Periodo: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
- Humedad: 40 – 70 %
- Alimento: Agua ad libitum y balanceado para roedores de forma de pellets (15g)
- Cama: con viruta cambio cada 48 horas

2.2.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA EL ANÁLISIS DEL VEGETAL

MATERIALES

- Vasos de precipitación 50, 250, 500 y 1000 mL
- Probetas de 10, 25, 50 mL
- Balones aforados de 10, 25, 50 y 100 mL
- Pipetas volumétricas 1, 5 y 10 mL
- Piseta
- Varilla de agitación
- Tubos tapa rosca
- Erlenmeyer de 250 mL

- Embudo simple
- Trípode
- Crisol
- Capsulas de porcelana
- Mortero con pistilo
- Matraces
- Termómetro
- Reverbero
- Mangueras
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Envases estériles de vidrio
- Jeringuillas de 1 y 3 mL
- Cánula
- Mascarillas, guantes y cubre zapatos
- Algodón
- Cinta métrica
- Jaulas para ratas
- Bebederos para ratas

REACTIVOS

- Carragenina al 1%
- Agua destilada
- Alcohol al 96 °
- Suero fisiológico
- Éter dietílico
- Naproxeno sódico 550 mg
- Coloroformo
- Alcohol amílico
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Dragendorff
- Dietil amina
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Fehling
- Hidroxido de sodio
- Magnesio metálico
- Cloruro férrico
- Amonio 5%
- Solución de carbonato de calcio
- Acetato de etilo
- Sulfato de cerio
- Tolueno
- Formol 10%

EQUIPOS

- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-V)
- Mufla (Optic Ivymen System)
- Balanza analítica (Boeco)
- Estufa (Memmert)
- Espectrofotómetro
- pH-metro
- Refractómetro

2.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1. RECOLECCIÓN DE LA MATERIA VEGETAL

La materia prima (hojas, tallo, flores y fruto), de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*), fue recolectada de la Provincia del Cañar de la Comunidad de Chuichun que se encuentra a 2.366 m.s.n.m, un clima templado y temperatura de 14 °C. (INIAP. 1995). La época del año en la que se recolectó el material vegetal fue en verano.

Se seleccionó las hojas, tallos, flores y frutos que estén en buenas condiciones y se eliminaron las partes aéreas deterioradas, la planta se lavó con abundante agua y se procedió a secar a temperatura no mayor a 30 ± 5 °C, para evitar el deterioro de algún compuesto químico presente en las partes de la planta.

2.3.2. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LA MATERIA VEGETAL

La materia vegetal como las hojas, tallos, flores y fruto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*), después de su recolección fueron sometidas al proceso de limpieza y desinfección de la siguiente manera:

- Se eliminaron las partes aéreas deterioradas basándose en el color y el estado físico de la planta.
- Las hojas, tallos, flores y fruto de la materia vegetal fueron sometidas a la limpieza y eliminación de impurezas sumergiéndolas en agua clorada.
- Se procedió al secado del material vegetal con una temperatura de 20 ± 2 °C, en un lugar cerrado con ausencia de luz.
- Se pulverizó y se almacenó en bolsas plásticas en condiciones adecuadas, en ausencia de luz y humedad.

2.3.3. EXTRACCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*) PARA EL ESTUDIO FARMACOLÓGICO

En la extracción de los metabolitos secundarios de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) y evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó mediante la metodología de la norma ramal de Salud Pública (NRSP) 311, descrita por Flores, Enríquez (2008). Para lo cual la materia prima fue recolectada en condiciones adecuadas y sometidas al proceso de limpieza y desinfección.

Para obtener el extracto etanólico se pesó 50 gramos de Allpa atsera seco pulverizado, se colocó en un recipiente de vidrio ámbar con 530 mL del solvente (alcohol al 96%) hasta que cubra por completo la planta, posteriormente se dejó macerar en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y con agitación.

Posteriormente el extracto se filtró y se colocó en un envase ámbar de vidrio, luego se concentró en el rota vapor hasta evaporación del solvente obteniendo un extracto blando.

En la preparación de las muestras se pesó 4.523 g del extracto blando y se reconstituyó con Tween 80 al 1% más agua destilada (3:22) (v/v en mL), obteniendo el extracto madre (Em), del cual se tomó 2 mL, 4 mL y 8 mL aforado en un balón de 10 mL con agua destilada para la obtención del extracto al 20%, 40% y 40%.

Para la preparación del Naproxeno sódico se pesó 0,06 g y se aforo a 10 mL con Tween 80 al 1% más agua destilada (1:9) (v/v en mL), para su posterior administración por vía oral a los animales de experimentación.

2.3.4. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

Para el control de calidad de la materia vegetal se realizó tomando en cuenta las Normas Ramales para Drogas Crudas y Tinturas. NRSP 309,311 y 312 MINSAP 1992.

Para el análisis del control de calidad de la droga cruda se realizaron las pruebas siguientes:

- **Contenido de la humedad:** mediante el método gravimétrico (perdida por desecación en la estufa).
- **Cenizas totales:** se determinó mediante el método gravimétrico (determinación en seco).
- **Cenizas solubles en agua:** se determinó mediante el método de la calcinación.
- **Cenizas insolubles en ácido clorhídrico (HCl):** se determinó mediante el método de calcinación.

2.3.5. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

2.3.5.1. Parámetros de calidad cualitativo del extracto etanólico

Para la realización del control de calidad se basó de acuerdo a las Normas Ramales. Drogas crudas. Extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y las 312. MINSAP 1992. Para la determinación de los parámetros de calidad.

- Los requisitos organolépticos
- El índice de refracción
- La densidad relativa
- El pH de los extractos
- Los Sólidos totales (método gravimétrico)

2.3.6. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Para la realización del Tamizaje Fitoquímico se basó de acuerdo a las Normas Ramales. Drogas crudas. Extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y las 312. MINSAP 1992. Para los siguientes análisis:

TABLA No. 8 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO
Alcaloides	Dragendorff
	Wagner
	Mayer
Taninos y Fenoles	Cloruro férrico
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Buchard
Flavonoides	Shinoda
	Antocianidinas
Saponinas	Espuma
Compuestos grasos	Sudan III
Azúcares reductores	Fehling
Catequinas	Catequinas
Quinonas	Borntrager
Resinas	Resinas
Cumarinas	Baljet
Mucílagos	Mucílagos
Principios Amargos	Prin. Amargos

ELABORADO POR: PEÑIDA, DIANA

2.4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Para la identificación de flavonoides y de alcaloides se realizó mediante la técnica de cromatografía de capa fina de WAGNER, Hildebert y otros (1996).

2.4.1. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA PARA FLAVONOIDEOS

– Procedimiento

Para la cromatografía se usó el extracto etanólico concentrado en el rota vapor, para el cual se utilizó un medio de corrido compuesto por: los solventes: Tolueno: Acetato de etilo. (90:13.5), Adsorbente: Silica gel 60 F₂₅₄ y se reveló con sulfato de cerio. Se

observó las manchas en la lámpara luz Ultravioleta (UV a 365nm) marca Aoguang/oem.

2.4.2. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA LOS ALCALOIDES

- **Sistema de solventes:** Tolueno: Acetato de etilo: Dietilamina. (17.5: 5: 2.5)
- **Adsorbentes:** Silica gel 60 F₂₅₄
- **Revelador:** Reactivo de Dragendorff

CÁLCULO:

$$R_f = \frac{\text{espacio recorrido de la muestra}}{\text{espacio recorrido del solvente}}$$

2.5. CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA LOS FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE RUTINA

El análisis de la cuantificación de flavonoides fue determinado en el extracto etanólico por espectrofotometría UV- visible, según la metodología de Shin et al.

- Tomar una alícuota de 500 µL del extracto etanólico y colocar en un tubo que contiene 400 µL de agua bidestilada.
- Añadir 38 µL de NaNO₂ al 5% p/v, tapar, homogenizar y dejar durante 5 minutos en reposo a temperatura ambiente.
- Añadir 38 µL de AlCl₃ al 10% p/v, tapar, agitar y dejar por 6 minutos en reposo a temperatura ambiente.
- Añadir 250 µL de NaOH 1M y se completa con un volumen final de 1250 µL con agua bidestilada.
- Las absorbancias de las reacciones se midieron inmediatamente a 510 nm en el espectrofotómetro UV – visible.
- La concentración de los flavonoides se estableció empleando una curva de calibración con el estándar de rutina a las diferentes diluciones.

- Se expresaron los resultados como miligramos de rutina por gramo de tejido vegetal. (MUÑOZ, Marisol. 2014)

2.6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*) MEDIANTE EL EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA

La actividad antiinflamatoria del extracto de *Lepidium bipinnatifidum*, se analizó en un lote de 18 ratas (*Rattus norvegicus*) albinas de la cepa Wistar en machos de 3 - 4 meses de edad y con un peso promedio de 187-232 g de peso. Procedentes del Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se distribuyeron lotes de 18 ratas y se dividieron en 6 grupos de 3 ratas seleccionados aleatoriamente. Luego de seleccionarles se les ubicó de forma individual en cada caja plástica con su correspondiente etiqueta, para su posterior administración.

2.6.1. PERIODO DE ACONDICIONAMIENTO Y AMBIENTACIÓN

Para la investigación se ambientó a todos los grupos a las mismas condiciones de alimentación, ambientales y a la manipulación, siguiendo el protocolo investigativo como:

Temperatura: $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$,

Humedad: 40 – 70 %

Fotoluminiscencia: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad

Ruido: ausencia

Alimentación: dieta equilibrada Pellets y *Ad libitum*

Periodo de tiempo: por 7 días

2.6.2. MODELO EXPERIMENTAL

Para la investigación se utilizó 18 ratas a las cuales se dividió aleatoriamente en 6 grupos de 3 ratas, que se utilizaron como: Blanco, Control Positivo, Control Negativo

y Grupos para el Experimento neto, como se ve en la tabla N° 9, que indica el ensayo de la actividad antiinflamatoria del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) realizado a cada grupo con tres repeticiones.

La Carragenina (1%) se inyecta 0.05 mL en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha después de unos 30 minutos de la administración de los diferentes extractos a evaluar. El vehículo utilizado fue Tween 80 al 1% y agua destilada, al grupo control (GB) se le administro el vehículo, grupo denominado control positivo, se le administro el medicamento (Naproxeno sódico 550 mg (7mg/kg)) y a los grupos 1, 2 y 3 (GE₁, GE₂, GE₃) se les administro los extractos etanólico a diferentes concentraciones.

TABLA No. 9 DENOMINACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

GRUPOS	REPETICIONES		
GB	R ₁	R ₂	R ₃
GN	R ₁	R ₂	R ₃
GP	R ₁	R ₂	R ₃
GE ₁	R ₁	R ₂	R ₃
GE ₂	R ₁	R ₂	R ₃
GE ₃	R ₁	R ₂	R ₃

ELABORADO POR: PENIDA DIANA. 2014

DONDE:

GB: Grupo Experimental Blanco: Administración del vehículo.

GN: Grupo Experimental Negativo: Administración de carragenina (1%) 0.05mL.

GP: Grupo Experimental Positivo: Administración Naproxeno sódico 550mg (7mg/kg).

GE₁: Grupo Experimental 1 Extracto Etanólico al 20%

GE₂: Grupo Experimental 2 Extracto Etanólico al 40%

GE₃: Grupo Experimental 3 Extracto Etanólico al 80%

2.6.3. MODELO DE INFLAMACIÓN (EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA)

Ensayo mediante la prueba del edema a la Carragenina según Winter. (SARAVIA, Amarallis. 2005)

Para el análisis de experimentación las ratas fueron puestas en ayuno de 12 horas para que no hubiera una interferencia entre el alimento y los extractos.

Se separaron 6 lotes de 3 ratas cada uno, se etiquetó y midió los volúmenes plantares iniciales de las patas derechas con una cinta métrica.

Se administró 1 mL del vehículo (Tween 80 al 1% más agua destilada) por vía oral al grupo control (GB). Al grupo control positivo (GP) se le dio Naproxeno sódico 550 mg (7mg/kg) por vía oral. Al grupo control negativo (GN) se inyectó carragenina al 1% en suero fisiológico 0.05 mL en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha, 20 minutos después de la administración de la sustancia. Al grupo experimental 1 (GE₁): 1 mL del extracto al 20% vía oral, al grupo experimental 2 (GE₂): 1 mL por vía oral del extracto al 40% y al 1 grupo experimental 3 (GE₃): 1 mL del extracto al 80% por vía oral veinte minutos antes de producir la inflamación.

Después de veinte minutos se administró a los 5 grupos, carragenina (al 1% disuelto en solución fisiológica) 0.05 mL en la aponeurosis de la pata derecha de cada animal experimenta. Luego se realizó las mediciones con la cinta métrica del volumen plantar a la 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 horas. Con los resultados que se obtuvieron se analizó el porcentaje de inflamación e inhibición de la reacción inflamatoria de carragenina. (SIÑANI, Gladis. 2009)

2.6.4. TRATAMIENTO

Se emplearon los extractos al 20%, 40% y al 80%. Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) en ratas y se administró por vía oral los extractos, empleando una jeringa con una cánula que sirve como sonda orogástrica. Después de producir la inflamación con 0.05 mL de

carragenina al 1% en la aponeurosis plantar derecha, se midió el volumen (largo y ancho) de las plantas posteriores desde: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas.

- **Cálculo del volumen de inflamación:**

FÓRMULA

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

Dónde:

V = Volumen de inflamación de la pata de la rata.

$\Pi = 3.14$

d = Diámetro de la pata derecha.

h = Largo de la pata.

Los resultados obtenidos se determinan como porcentaje de inhibición y se calculó de la siguiente manera:

FÓRMULA

$$\% I = \frac{V_c - V_p}{V_c} \times 100$$

Dónde:

% I = Porcentaje de inhibición

V_c = Volumen de la pata de la rata inflamada en un tiempo x.

V_p = Volumen del grupo problema

2.7.EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*)

La toxicidad se utiliza como base en las investigaciones sobre toxicidad aguda y para informar sobre el modo de la acción tóxica de las sustancias que se van a analizar. La toxicidad aguda se realiza dentro de un corto periodo de tiempo, esta dosis está relacionada con la dosis letal media (DL50) y que estadísticamente deriva de la administración de una sustancia de una dosis única que puede provocar la muerte del 50% de los animales utilizados en la experimentación.

La dosificación es un término general que comprende la dosis, la frecuencia y la duración de la administración. (SARAVIA, Amarallis. 2005)

2.7.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la investigación de toxicidad aguda se seleccionó de forma aleatoria un grupo de cuatro ratas, a las cuales se les dejó en ayuno por 24 horas antes de administración del extracto etanólico de mayor concentración. Después de la administración los animales de experimentación fueron observados durante los 30, 60, 120 y 240 minutos y diariamente durante los 14 días del experimento. La observación se realiza después de la administración y se registra individualmente para cada uno de los animales de experimentación. (SARAVIA Amarallis. 2005)

TABLA No. 10 TOXICIDAD AGUDA

Valoración de los signos de toxicidad			
Actividad general	4	Tono corporal	4
Irritabilidad	0	Enderezamiento	0
Contorciones	0	Lagrimación	0
Grito	0	Convulsiones	0
Huida	4	Defecación	4
Respuesta al toque	4	Micción	4
Patatas posteriores	0	Piloerección	0
No. de muertos			

FUENTE: (GÓMEZ, Amarallis. 2005)

Así los parámetros, cuyos valores tienen una anotación de 4 pueden reducirse hasta 0, en el caso de desaparición de una respuesta analizada que puede llegar a tener hasta una anotación máxima de 4. (SARAVIA, Amarallis. 2005)

- **Determinación de la dosis letal media (DL₅₀)**

Para calcular la DL₅₀ los datos que se obtuvieron anteriormente se analiza mediante el método de Beherens y Karber. (SARAVIA, Amarallis. 2005)

FÓRMULA

$$DL_{50} = D_f - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

Dónde:

DL₅₀ = Dosis letal media

D_f = Es la primera dosis de administración que mata a todos los animales de un grupo de experimentación.

a = Es la suma de animales muertos de dos lotes consecutivos.

b = Es el número de animales de experimentación por lote.

n = Numero de animales por cada lote. (SARAVIA, Amarallis. 2005)

2.7.2. ANÁLISIS ANATOPATOLÓGICO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)

Los animales de experimentación después de terminar con la toxicidad son sacrificados, mediante la eutanasia con dióxido de carbono (CO₂) para la evaluación macroscópica de sus órganos internos (estómago, riñón e hígado). Todas sus alteraciones fueron observadas y registradas como: peso, color y tamaño (largo, ancho y profundidad), todas estas muestras fueron colocados en envases de plástico estériles que contenían 30 mL de formol buferado al 10% hasta que lleve al laboratorio para sus análisis histopatológico.

2.7.3. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO

Las muestras recolectadas en envases estériles fueron llevadas al laboratorio histopatológico para la preparación de las placas y para su posterior observación microscópica, determinando así si existe o no daños a nivel tisular que pueden ser ocasionados por los extractos administrados al grupo experimental.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta presente investigación se realizó el control de calidad Físico-Químico de la droga cruda, de los diferentes tipos de extractos y la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Allpa atsera en ratas.

3.1 CONTROL FÍSICO-QUÍMICO DE LA DROGA CRUDA

Para el análisis de la droga cruda seca y triturada se realizó el control de calidad y se comparó con las especificaciones establecidas por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (NEFT). (MUÑOZ, Marisol. 2014)

CUADRO No 1. RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. MAYO 2014.

PARÁMETROS	RESULTADOS	NEFT
Determinación de Humedad	9%	8-14%
Determinación de Cenizas totales	10%	Hasta 12%
Determinación de Cenizas solubles en agua	5%	Hasta 7%
Determinación de Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	4%	Hasta 5%

En el cuadro N° 1 nos indica los resultados que se obtuvieron en el control de calidad de la droga cruda, los cuales se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (NEFT) 2001, lo que nos indica que los parámetros físico-químicos de la droga vegetal cumplen con los especificaciones establecidas.

3.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Este análisis nos permite identificar de forma cualitativa los principales compuestos químicos presentes en *Lepidium bipinnatifidum*.

CUADRO No. 2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. MAYO 2014.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Alcaloides	Dragendorff	(-)	(+)	(-)
	Wagner	(-)	(++)	(-)
	Mayer	(+)	(++)	
Taninos y Fenoles	Cloruro férrico		(++)	(++)
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Buchard	(+)	(+)	
Flavonoides	Shinoda		(++)	(++)
	Antocianidinas		(++)	
Saponinas	Espuma		(+)	(+)
Compuestos grasos	Sudan III	(+)		
Azúcares reductores	Fehling		(-)	(+)
Catequinas	Catequinas		(-)	
Quinonas	Bortrager		(-)	
Resinas	Resinas		(-)	
Cumarinas	Baljet	(-)	(-)	
Mucílagos	Mucílagos			(+)
Prin. Amargos	Prin. Amargos			(+)

(-): No hay evidencia del compuesto; (+): Baja evidencia; (++) : Evidencia moderada; (+++): Alta evidencia

Para el tamizaje fitoquímico, las extracciones se llevaron a cabo en orden de su polaridad de menor a mayor, utilizando tres solventes: éter dietílico, etanol y agua. Éstos solventes tienen la capacidad de cambiar el pH del medio para obtener los metabolitos secundarios de acuerdo a la solubilidad.

En el proceso de extracción de la droga vegetal, con éter dietílico va a extraer a los principios activos de polaridad semejante (lipofílico), la extracción con etanol al 96% va a extraer los constituyentes afines y en el acuoso se extrae los compuestos más hidrosolubles, debido a la polaridad.

Se obtuvieron en la caracterización de los metabolitos secundarios de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) respuestas positivas para una gran variedad de grupos funcionales, destacándose los siguientes:

- Alcaloides
- Taninos y fenoles
- Triterpenos y esteroides
- Flavonoides
- Saponinas
- Compuestos grasos, Quinonas
- Azúcares reductores
- Mucílagos y Principios amargos

Varios de estos metabolitos secundarios han podido también ser detectados en un tipo de *Lepidium* (Maca: *Lepidium peruvianum*) que es una planta que pertenece a la misma familia. (GARCÍA, J. 2010)

Estos compuestos presentan acción terapéutica, como los flavonoides presentan actividad antiinflamatoria, antioxidante entre otras, los alcaloides tienen actividad analgésica, antipirética y los taninos intervienen en la cicatrización. (LUCK, Olga. 1994)

La mayoría de los compuestos son más afines al extracto etanólico como se ve en el cuadro N° 2, debido a la polaridad intermedia que este presenta, es por ello que la mayoría de las pruebas dan positivo, ya que las sustancias activas se solubilizan en mayor porcentaje en el extracto etanólico al 96%.

3.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)

3.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO

La determinación organoléptica de las hojas, tallos, flores y fruto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) se realizó después de obtener por maceración con alcohol al 96%.

CUADRO No. 3. DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014

PARÁMETROS	RESULTADOS
Olor	Característico
Color	Verde oscuro
Sabor	Ligeramente Amargo
Aspecto	Líquido

En el cuadro N° 3 se observa las características organolépticas del extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) se observó un color verde oscuro, su aspecto líquido, presentó un sabor característico, olor ligeramente picante, siendo característico de la planta.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA

CUADRO No. 4 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

PARÁMETRO	RESULTADO
pH	6,11
Índice de refracción	1.367
Densidad relativa	0.8793 g/MI
Sólidos totales	2.40 %

En el cuadro N° 4 se muestran los resultados de los parámetros físicos del extracto etanólico de Allpa atsera, obteniendo un pH de 6.11 lo que nos indica una ligera ácido, esto hace que los compuestos químicos de la planta no se alteren de tal forma que proporcionan solubilidad y estabilidad, manteniendo así la actividad de la planta.

En el índice de refracción se obtuvo un valor de 1.367, siendo más alto que el índice de refracción del agua que es de 1.333, lo que nos indica que hay la presencia de sustancias disueltas.

La densidad relativa fue de 0.8793 g/mL a diferencia de la densidad del solvente que es de 0.789 g/mL, siendo más alto la densidad del extracto lo que indica que existen sustancias en disolución.

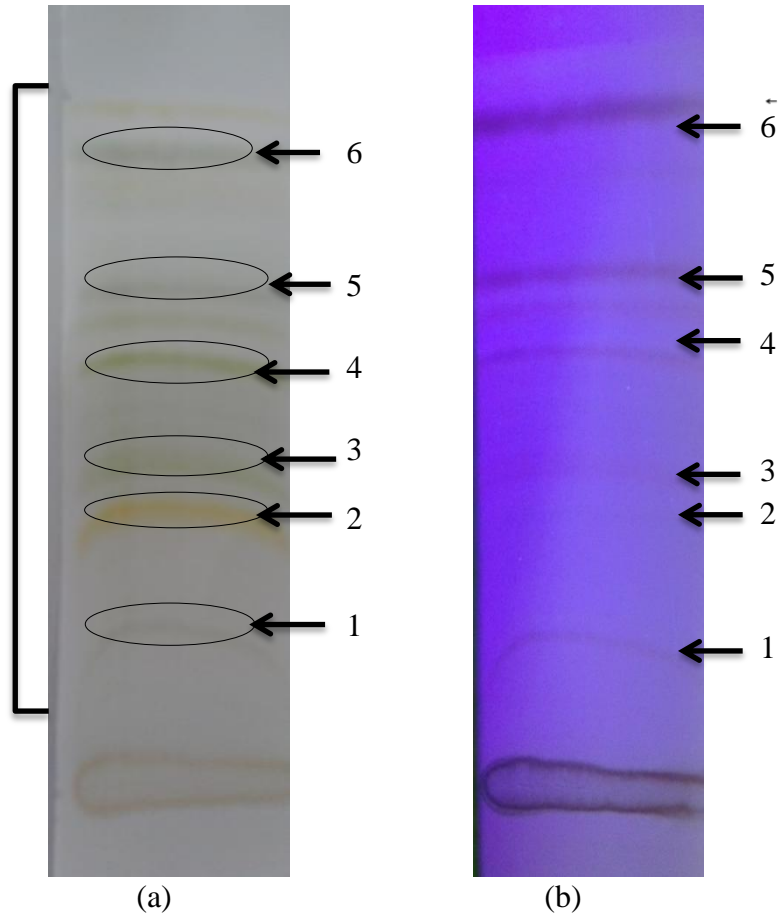
Los sólidos totales nos indican la cantidad de materia disuelta, mide el total de residuos sólidos filtrables (como los residuos orgánicos y sales). Se obtuvo un valor de solidos totales de 2.40 %.

3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO EN CAPA FINA (TLC)

3.4.1 CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES

En el cuadro N° 5 se muestran los resultados obtenidos al calcular los Rf luego de la realización de la cromatografía de capa fina del extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*).

CUADRO No. 5 DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA DE FLAVONOIDES EN CAPA FINA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.



Solventes: Tolueno: Acetato de etilo: (90:13.5)

Adsorbentes: Silica gel 60 F₂₅₄

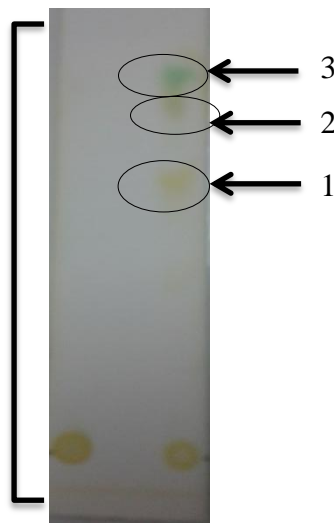
Revelador: (a) Sulfato de cerio: (b) UV a 365 nm

Manchas observadas	Cálculo del Rf	Compuesto
1	$Rf = 2.1/7.8 = 0.27$	Quercetina (flavonol)
2	$Rf = 3.9/7.8 = 0.50$	Kaemferol
3	$Rf = 4.7/7.8 = 0.60$	Crisina (Flavonol)
4	$Rf = 5.0/7.8 = 0.64$	Galangina (Flavonol)
5	$Rf = 6.0/7.8 = 0.77$	3-Hydroxyflavone
6	$Rf = 6.9/7.8 = 0.88$	Flavona

En las placas obtenidas por cromatografía de capa fina (CCF) del extracto etanólico de Allpa atsera se observó 6 manchas, con una coloración que varía de amarillo a violeta. Debido a la presencia de los posibles flavonoides que pueden ser: quercetina, kaemferol, crisina, galangina, 3-Hydroxyflavone y flavona, según (WAGNER, Hildebert y otros. 1996) (SARIÉ, Marica y otros. 2004). Como se indica en el cuadro N° 5.

En un estudio realizado a un género de *Lepidium* se ha encontrado flavonoides como la quercetina, que es considerado como un principio activo neuroprotector, antitumoral y es un inhibidor de la Tirosinquinasa (TKN), de la ornitina descarboxilasa (ODC). (CASTAÑEDA, Benjamín y otros. 2010)

CUADRO No. 6 DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA DE ALCALOIDES EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.



Solventes: Tolueno: Acetato de etilo: Dietilamina. (17.5: 5: 2.5)

Adsorbentes: Silica gel 60 F₂₅₄

Revelador: Reactivo de Dragendorff

Manchas observadas	Cálculo del Rf
1	$Rf = 4.7/8.3 = 0.57$
2	$Rf = 6.2/8.3 = 0.75$
3	$Rf = 6.5/8.3 = 0.78$

En el cuadro N° 6 se indica la placa cromatográfica de alcaloide con tres manchas de diferente color que se obtuvo luego de revelar. También se indica sus cálculos de los Rf de cada mancha y la presencia de los posibles alcaloides.

Según realizado por García Jacquelin (2010) a un género de *Lepidium* se identificaron alcaloides de tipo imidazólicos: el cloruro de 1,3-dibenzil-4,5-dimetilimidazol llamado lepidilina A y el cloruro de 1,3-dibenzil-2, 4, 5-trimetilimidazol llamado lepidilina B.

3.5. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES COMO PORCENTAJE DE RUTINA POR MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRIA

En el análisis del contenido de flavonoides, se utilizó como muestra estándar la rutina en diferentes concentraciones que fue medido por espectrofotometría UV-visible a una longitud de onda de 510 nm. Se determinó el contenido de flavonoides totales en el extracto etanólico de *Lepidium bipinnatifidum* mediante la ecuación de la curva de calibración (ver anexo N° 13) y se obtuvo los siguientes resultados.

CUADRO No. 7 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS EN µg DE RUTINA/g DE MUESTRA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*). LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Absorbancia	Concentración en ppm (µg rutina/mL del extracto)	Contenido de flavonoides en µg rutina/g muestra
0.671	81. 82 ±19	93.05

N = 3; ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR PARA TRES MEDICIONES; p-Valor < 0,05.

Los resultados del contenido de flavonoides totales en función de rutina fue de 93.05 µg/g de muestra, como se muestra en el cuadro N° 7.

3.6. “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”.

Los datos obtenidos de las tres réplicas se detallan en el cuadro N° 8, de los tres extractos administrados (20%, 40% y 80%).

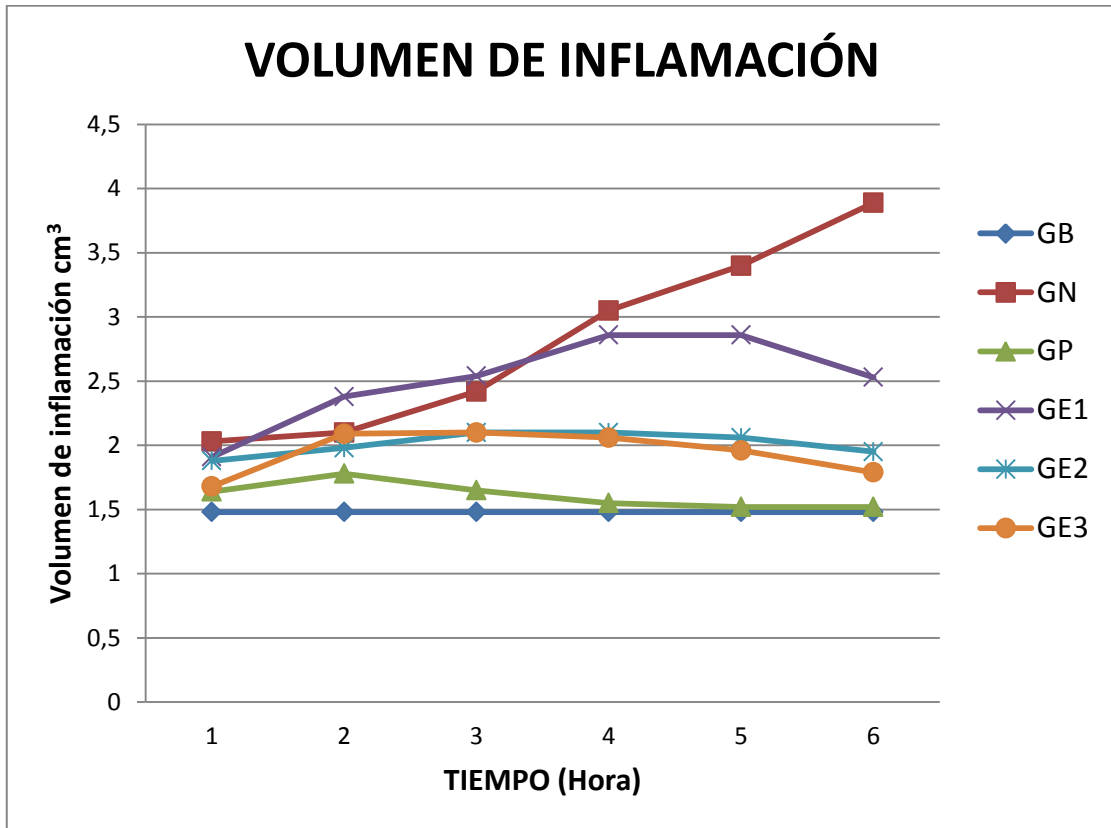
CUADRO No. 8 DATOS DE LOS VOLUMENES DE INFLAMACIÓN DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*) DE LOS GRUPOS TRATADOS A DIFERENTES TIEMPOS. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.

VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS (cm ³)						
TIEMPO (Hora)	GB	GN	GP	GE ₁	GE ₂	GE ₃
1	1,48±0,12	2,03±0,03	1,64±0,07	1,91±0,21	1,88±0,25	1,68±0,12
2	1,48±0,12	2,10±0,23	1,78±0,17	2,38±0,34	1,98±0,21	2,09±0,14
3	1,48±0,12	2,42±0,28	1,65±0,16	2,54±0,30	2,10±0,23	2,10±0,23
4	1,48±0,12	3,05±0,43	1,55±0,21	2,86±0,29	2,10±0,23	2,06±0,11
5	1,48±0,12	3,40±0,15	1,52±0,12	2,86±0,29	2,06±0,11	1,96±0,30
6	1,48±0,12	3,89±0,12	1,52±0,12	2,53±0,24	1,95±0,36	1,79±0,30

± Desviación estándar p < 0,05

GB: Blanco; GN: control negativo; GP: Control positivo; GE₁: Grupo experimental 1; GE₂: Grupo experimental 2; GE₃: Grupo experimental 3.

En la cuadro N° 8 se muestran los resultados obtenidos con respecto al volumen promedio de inflamación de todos los animales de experimentación, mediante el modelo de edema plantar inducido por carragenina al 1%. Se puede observar que el grupo experimental 3 (GE₃) es el que más se asemeja al grupo control positivo (GP) al que se le administró el medicamento.



ELABORADO POR: PEÑIDA DIANA

GRÁFICO No.1. VOLUMENES DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTALES VS TIEMPO. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

En el gráfico N° 1 se observan los volúmenes de inflamación de los grupos de experimentación, obteniéndose un valor máximo de inflamación a la sexta hora de $3,89 \text{ cm}^3$ que pertenece al grupo control negativo (GN) al que se le administró solo carragenina al 1 % en la aponeurosis plantar, el grupo control positivo (GP) presentó un volumen máximo de inflamación a la segunda hora de $1,78 \text{ cm}^3$ y a la cuarta hora empezó a bajar, el grupo experimental 1 (GE_1) presentó un volumen de inflamación máximo a la cuarta hora de $2,86 \text{ cm}^3$, mientras que el grupo experimental dos y tres (GE_2 y GE_3) presentó un volumen máximo de inflamación a la tercera hora de $2,10 \text{ cm}^3$, pero el GE_3 a la cuarta hora empezó a bajar a $2,06 \text{ cm}^3$, a diferencia del GE_2 que se mantiene. De tal manera que el volumen inferior al grupo control tiene actividad antiinflamatoria, debido a que el edema plantar en el animal de experimentación va disminuyendo.

3.6.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)

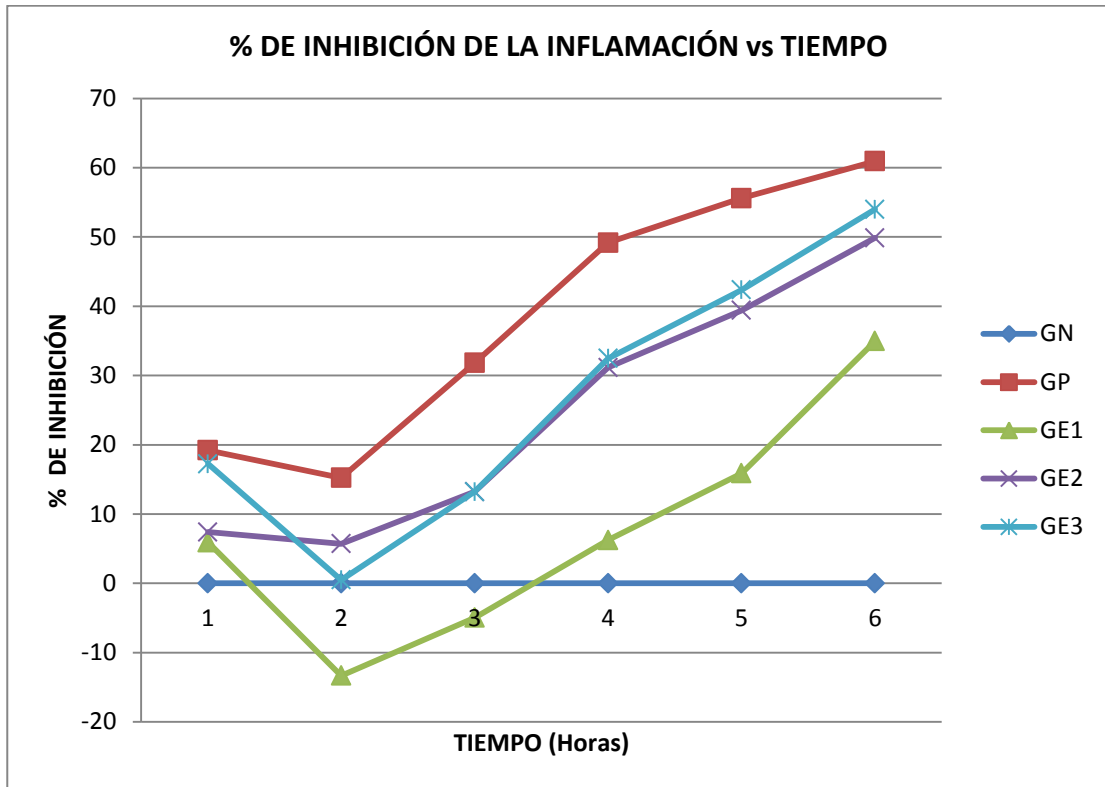
Para calcular los datos del porcentaje de inhibición de cada grupo de experimentación, se utiliza las medias de los volúmenes de inflamación y se calculó mediante la fórmula del porcentaje de inhibición. El análisis estadístico se realizó mediante el test ANOVA y el de Tukey HSD al 95% de significancia.

CUADRO No. 9 PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE INFLAMACIÓN DEL ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*) DE LOS GRUPOS TRATADOS A DIFERENTES TIEMPOS. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

% DE INHIBICIÓN DE INFLAMACIÓN					
TIEMPO (Hora)	GN	GP	GE ₁	GE ₂	GE ₃
1	0,00±0,00	19,21±0,16	5,91±0,03	7,39±0,16	17,24±0,17
2	0,00±0,00	15,23±0,17	-13,33±0,03	5,71±0,20	0,48±0,03
3	0,00±0,00	31,82±0,17	-4,96±0,03	13,22±0,16	13,22±0,17
4	0,00±0,00	49,18±0,21	6,23±0,15	31,15±0,17	32,46±0,17
5	0,00±0,00	55,59±0,21	15,88±0,16	39,41±0,21	42,35±0,20
6	0,00±0,00	60,93±0,22	34,96±0,17	49,87±0,21	53,98±0,21

± Desviación estándar p < 0,05

En el cuadro N° 9 se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición de los diferentes grupos experimentales con sus respectivas desviaciones estándares. El comportamiento de los cuatro grupos (GP, GE₁, GE₂ y GE₃) tratados en comparación con el GN.



ELABORADO POR: PEÑIDA DIANA

GRÁFICO No.2. PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTALES VS TIEMPO. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

En el gráfico N° 2 se muestran los resultados de inhibición de la inflamación que se obtuvieron con la carragenina, medicamento y el extracto a diferentes concentraciones en diferentes tiempos.

El porcentaje de inhibición a la primera hora de los grupos GE₁ y GE₂ fue de 5,19% y 7,39% respectivamente lo cual no difiere mucho entre los dos, a diferencia del GE₃ que muestra un porcentaje de inhibición de 17,24%, dato que resulta ser estadísticamente significativo con respecto a los grupos GE₁, GE₂ y al grupo control (GP) en el que se obtuvo un porcentaje de inflamación de 19,21%.

En la segunda hora el porcentaje de inhibición del GE₃ de 0,48% que es significativamente diferente a los demás grupos experimentales, siendo el más cercano el porcentaje de inhibición del grupo experimental GE₂ de 5,71%, mientras que del GE₁ fue de -13,33% lo que nos indica que no existe aún el efecto de la actividad

antiinflamatoria. En el caso del fármaco Naproxeno sódico presenta 15,23% de inhibición de la inflamación, dato que resulta ser estadísticamente significativo a los demás.

A las 3 horas el porcentaje de inhibición de los grupos de experimentación: GE₂ y del GE₃ son iguales de 13,22%, a las 4 y 5 horas no existe mucha diferencia entre los dos grupos experimentales (4 horas: GE₂: 32,46% y GE₃: 32,46%) y (5 horas: GE₂: 39,41% y GE₃: 39,41%), a diferencia del grupo control positivo que en las dos horas su valor fue superior a los tres grupos experimentales (4 hora: GP: 49,18%; 5 hora: 55,59%) datos que resultan ser estadísticamente significativos con respecto a los grupos experimentales.

Al cabo de seis horas se tiene un porcentaje de inhibición de la inflamación de 34,96%, 49,87%, 53,98% y 60,93% para el extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) y para el Naproxeno sódico de (550 mg) respectivamente, datos que resultan ser estadísticamente significativos ($p < 0,05$).

Por lo que el resultado del estudio farmacológico demuestra que el extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) tiene actividad antiinflamatoria similar que el grupo control (GP) al que se le administro el medicamento, es decir que es capaz de inhibir la liberación o la acción de las prostaglandinas, esta actividad antiinflamatoria podría estar en relación con la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y compuestos fenólicos que dan la actividad antiinflamatoria al extracto, ya que actúan a nivel del foco inflamatorio por un mecanismo indirecto, inhibiendo la COX (ciclooxigenasa) y por ende la biosíntesis de las PGs (prostaglandinas) esenciales en la inflamación.

3.6.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó comparando las medias de los diferentes grupos de experimentación utilizando el test de ANOVA (análisis de varianzas) y el de Tukey para determinar los valores significativos con respecto al grupo control ($p < 0,05$), para lo cual se utilizó el programa estadístico SPSS

➔ **ANOVA de un factor**

[Conjunto_de_datos0]

ANOVA de un factor

INHIBICIÓN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5807,292	4	1451,823	5,223	,003
Intra-grupos	6949,006	25	277,960		
Total	12756,299	29			

GRÁFICO No.3. TEST DE ANOVA DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN TIEMPOS DIFERENTES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

En el gráfico N° 3 se observa el resultado obtenido en el análisis de ANOVA y nos indica que los resultados se consideran estadísticamente significativos, donde $p < 0,05$, esto significa que se rechaza la Hipótesis nula y se acepta la Hipótesis alternativa. Por lo tanto uno de los grupos de experimentación es variable.

INHIBICIÓN			
HSD de Tukey ^a			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1,00	6	,0000	
3,00	6	7,4483	
➔ 4,00	6	24,4583	24,4583
5,00	6	26,6217	26,6217
2,00	6		38,6600
Sig.		,072	,587

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

GRÁFICO No.4. TEST DE TUCKEY DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN TIEMPOS DIFERENTES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

El test de Tukey indica que el tratamiento más efectivo fue el control positivo (GP) al que se le administro Naproxeno sódico y de los tres extracto (20%, 40% y 80%) el más eficaz es el extracto al 80% y el 40%, siendo ligeramente más eficaz el extracto al 80%, debido que entre los dos existe una diferencia de 2.1634% y teniendo una significancia de 0.587, como se indica en el gráfico No. 4.

3.7. TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*)

Para la evaluación de toxicidad aguda se seleccionó cuatro ratas y se les codificó individualmente para una correcta identificación de cada animal de experimentación, como se ve en la cuadro N° 10.

CUADRO No. 10 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*) EN RATAS. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

GRUPO	EXTRACTO	DOSIS	N° ANIMALES	N° DE ANIMALES MUERTO
GB	-	-	1	0
GTA ₁	80%	1	1	0
GTA ₂	80%	1	1	0
GTA ₃	80%	1	1	0

Dónde:

GC: Grupo control o blanco para la evaluación toxicológica

GTA₁: Grupo de Toxicidad aguda uno

GTA₂: Grupo de Toxicidad aguda dos

GTA₃: Grupo de Toxicidad aguda tres

La toxicidad aguda se realizó en 4 ratas (*Rattus norvegicus*) en una sola concentración al 80 % del extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) por vía oral y en dosis simple. El tiempo de investigación fue durante 14 días, con la aplicación de la norma OCDE/OECD 423, 2012. (RODRÍGUEZ, Jesús y otros. 2012)

CUADRO No. 11 DETERMINACIÓN DE LOS SIGNOS DE LAS RATAS DURANTE LOS 7 DÍAS DE LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

SIGNOS	GTA ₁	GTA ₂	GTA ₃
	DÍAS	DÍAS	DÍAS
	2 4 6 8 10 12 14	2 4 6 8 10 12 14	2 4 6 8 10 12 14
Actividad general	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Irritabilidad	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Contorciones	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Grito	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0
Huida	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Respuesta toque	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Patas posteriores	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Tono corporal	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Enderezamiento	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Lagrимación	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Convulsiones	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Defecación	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Micción	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Piloerección	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
No. de muertos	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0

En el cuadro N° 11 describe los signos de los 14 días de la evaluación toxicológica en los animales de experimentación, no se adjuntan los datos de los últimos siete días debido a que no presentaron ninguna reacción.

En el sexto día de experimentación se observó grito del GTA₃ antes de la administración, mientras que de los demás grupos no se observó ningún signo de toxicidad aguda, lo cual significa que el extracto de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) no presenta reacción adversa.

En el cálculo de la dosis letal media (DL₅₀) de los animales de experimentación no se puede realizar, debido a que no hubo muerte de los animales durante los 14 días de la evaluación de toxicidad aguda.

Lo que nos indica que el extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) administrado en estas dosis no posee efectos tóxicos para la salud,

3.8. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO

Los 14 días de administración del extracto al 80% se realizó la disección la disección y se realizó un análisis histopatológico de los órganos: Estomago, Riñón e Hígado de cada animal de experimentación para la observación macroscópica y luego se llevó al laboratorio histopatológico para la observación microscópica y se determinó si existió o no daño causado por la dosis administrada.

CUADRO No. 12. EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DE LAS RATAS DESPUES DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERÁ (*Lepidium bipinnatifidum*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014

MUESTRAS	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
GB	<u>Estómago</u> Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 1.4 g Largo: 3.0 cm Ancho: 1.9 cm Profundidad: 0.5 cm	Mucosa gástrica conservada; vasos sanguíneos de calibre normal.
GB	<u>Riñones</u> Color: Rojo pardo Peso: 1.9 g Largo: 3.0 cm Ancho: 1.1 cm Profundidad: 0.6 cm	Glomérulos con integridad de la membrana; espacios de Bowman adecuada; túbulos de calibre y contenido normal.
GB	<u>Hígado</u> Color: Rojo vino Peso: 8.8 g Largo: 4.2 cm Ancho: 5.4 cm Profundidad: 0.6 cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; sinusoides de calibre normal; espacios porta con vasos de calibre normal.
GTA ₁	<u>Estómago</u> Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 1.8 g Largo: 2.2 cm Ancho: 0.8 cm Profundidad: 0.5 cm	Mucosa gástrica íntegra; vasos sanguíneos de calibre normal.
GTA ₁	<u>Riñones</u> Color: Rojo vino Peso: 1.0 g Largo: 1.7 cm	Glomérulos con integridad de la membrana; túbulos de calibre y contenido adecuada;

	Ancho: 1.1 cm Profundidad: 0.5 cm	espacios de Bowman normal.
GTA ₁	<u>Hígado</u> Color: Rojo vino Peso: 11.3 g Largo: 4.6 cm Ancho: 6.3 cm Profundidad: 0.7 cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; sinusoides de calibre normal; espacios porta con vasos de calibre normal.
GTA ₂	<u>Estómago</u> Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 1.7 g Largo: 3.2 cm Ancho: 0.9 cm Profundidad: 0.2 cm	Mucosa gástrica conservada; vasos sanguíneos de calibre normal.
GTA ₂	<u>Riñones</u> Color: Rojo pardo Peso: 0.9 g Largo: 1.8 cm Ancho: 0.9 cm Profundidad: 0.5 cm	Glomérulos con integridad de la membrana; túbulos de calibre y contenido adecuada; espacios de Bowman normal.
GTA ₂	<u>Hígado</u> Color: Rojo vino Peso: 11.4 g Largo: 4.5 cm Ancho: 6.0 cm Profundidad: 0.8 cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; sinusoides de calibre normal; espacios porta con vasos de calibre normal.
GTA ₃	<u>Estómago</u> Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 1.4 g Largo: 3.0 cm Ancho: 0.8 cm Profundidad: 0.5 cm	Mucosa gástrica íntegra; vasos sanguíneos de calibre normal.

GTA ₃	<u>Riñones</u> Color: Rojo vino Peso: 0.8 g Largo: 1.2 cm Ancho: 0.8 cm Profundidad: 0.5 cm	Glomérulos con integridad de la membrana; espacios de Bowman adecuada; túbulos de calibre y contenido normal.
GTA ₃	<u>Hígado</u> Color: Rojo vino Peso: 10.7 g Largo: 4.6 cm Ancho: 5.6 cm Profundidad: 0.8 cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; espacios porta con vasos de calibre normal; sinusoides de calibre normal.

En el cuadro N° 12, se observa los resultados obtenidos del examen macroscópico y microscópico realizados a los animales de experimentación para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Lepidium bipinnatifidum*.

En el análisis macroscópico realizado a los animales de experimentación se observó el color, peso, largo, ancho y profundidad de los tres órganos (estómago, riñón y hígado), los cuales se encuentran dentro de los parámetros normales.

En el análisis microscópico de los tres órganos no se observó ninguna afección, así la mucosa gástrica del estómago estaba íntegra y sus vasos sanguíneos normal, los lobulillos del hígado presento una arquitectura y disposición normal, sus sinusoides de calibre normal.

Los riñones presentaron glomérulos con integridad de la membrana; túbulos de calibre y contenido adecuada y espacios de Bowman normal.

Lo que nos indica que en el examen macroscópico y en el microscópico realizado a los órganos de los animales de experimentación no presentó ninguna anomalía en ninguno de ellos, por lo que el extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) no es tóxico en dosis altas.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. En el análisis del control de calidad de la droga cruda como la determinación de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y en ácido clorhídrico presentaron resultados que cumplen con las especificaciones establecidas en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos.
2. Al realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos: etéreo, alcohólico y acuoso de *Lepidium bipinnatifidum* se observó que en los extractos contenían metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, triterpenos y esteroides, saponinas, azúcares reductores, mucilagos.
3. Se comprobó el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) a concentraciones diferentes, mediante la inducción de edema plantar por carragenina 1%. Evidenciándose un efecto antiinflamatorio en el tratamiento con el extracto de Allpa atsera al 80%, mediante el análisis de varianzas en comparación de medias, comprobándose diferencias estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos experimentales.
4. La evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de Allpa atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) al 80% presentó una actividad antiinflamatoria similar al medicamento (550 mg), debido a que su porcentaje de inhibición es mayor que de los demás grupos de experimentación.
5. El análisis macroscópico y microscópico en los animales de experimentación se comprobó que el extracto de Allpa atsera, administrado por vía oral durante 14 días, no presentó efectos tóxicos, pero sí presentó un efecto antiinflamatorio a una concentración alta de la planta seca.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda que se realicen investigaciones de la especie *Lepidium bipinnatifidum*, ya que existen muy pocos estudios e información sobre esta planta que es de gran importancia, debido a que presenta diversas propiedades terapéuticas gracias a sus metabolitos secundarios.
2. Se recomienda continuar con investigaciones de las diferentes plantas medicinales que existen en el Ecuador y en el mundo en búsqueda de acciones farmacológicas y terapéuticas.
3. Se aconseja continuar con la investigación del extracto etanólico de Allpa atsera mediante el fraccionamiento del extracto, con el objetivo de identificar al metabolito que le da la actividad antiinflamatoria.
4. Se sugiere elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad antiinflamatoria del extracto a mayor concentración (80%).

BIBLIOGRAFÍA

ACERO, Gloria y otros. Medicina Indígena. Ecuador. Chimborazo. Abya-Yala/UPS
Publicación. 1992, Pp. 108

AGUILAR, Juan y otros. Manual SERMEF de rehabilitación y medicina física.
Buenos Aires-Madrid. Medica Panamericana. 2008, Pp. 453-454

ARIAS, Ángela. Biotecnología y metabolitos secundarios en *Lepidium peruvianum*
Chacón. “MACA”. (Tesis) (Biólogo). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Facultad de Ciencias Biológicas. EAP. Ciencias Biológicas. Lima. 2002, Pp. 1

ARIAS, Jaime. Fisiopatología quirúrgica: traumatismo, infecciones, tumores.
Madrid: Tebar. 1999, Pp. 287

ATUL, Anand. Lo esencial en patología. 3a ed. Barcelona-España: Diorki Servicios
Integrales. 2011, Pp.5-10

CAMERON, Michelle. Agentes Físicos en Rehabilitación. 3a ed. Barcelona España:
GEA Consultoría. 2009, Pp. 25-38

CÁSCALES, María y otros. Bioquímica Y Fisiopatología del Sistema Inmune.
Madrid-España. Realigraf. 2007, Pp. 31

CASTAÑEDA, Benjamín y otros. Estudio Botánico y Fitoquímico de las Hojas
Secas de Maca de la Meseta de Bombón. (Revista Horizonte Médico), Vol. 10, No. 1.
Junín-Perú. Pp. 15, Julio 2010

CARRETO, Alejandro. Espesantes y gelificantes. SlidePallayer. 2014

<http://slideplayer.es/slide/1799755/>

2014/10-12

CURACIÓN DE LAS HERIDAS. Intervención.1996

http://www7.uc.cl/sw_educ/ninoquemado/html/mod4/lcicatriz.html

2014/10-12

DANIEL, Horton. Lo esencial en farmacología. 4a ed. Madrid-España. Elsevier. 2013. Pp. 151-155

DOSIS LETAL 50 (DL50). AnimaNaturalis. 2009

<http://www.animanaturalis.org/p/1361/dosis%20letal%2050%20DL50>

2014/10-18

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHEMORRÁGICA Y OXITÓCICA DE *Lepidium bipinnatifidum*. RAMÍREZ Anchayhua y otros. 2013

<http://es.scribd.com/doc/172889484/Expo-Lepidium2>

2014/10-12

FONNEGRA, Ramiro y otros. Plantas medicinales aprobadas, en Colombia, 2a ed. Medellín-Colombia. Universidad de Antioquia. 2006, Pp.12

FLORES, Enríquez y otros. Estudio Farmacognóstico y Fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale ruscoe* “Gengibre” de la Ciudad de Canchamayo-Región Junín. (Revista Médica Vallegiana). Vol. 5. No.1. Perú. Pp. 50-64. 2008

GARCÍA, Jacquelin. Comparación de la actividad de extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón (maca) sobre leucocitosis procedentes de individuos saludables e infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). (Tesis) (Biól.). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima Perú. 2010, Pp. 5-8

GARCÍA, Pedro. INFLAMACIÓN. Programa de la Cultura Científica y Tecnológica. (Revista Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat), Vol. 102, No. 1. España, Pp. 92. 2008

GENNARO, Alfonso. Remington Farmacia. 20a ed. Argentina-Buenos Aires: Medica panamericana. 2003, Pp. 1198-1735

GOODMAN, Alfred y otros. Base farmacológica de la terapéutica. 10a ed. México. Cámara Nacional de la Industria. 2003. Pp. 698-723

GUILLEN, Gabriela y otros. Conocimientos y practicas del uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en adultos mayores del centro gerontológico del IESS. Cuenca 2013-2014. (Tesis) (Médico). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina. Cuenca-Ecuador. 2014, Pp. 15

HERNÁNDEZ, Silvia. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. (Biomedicina), Vol. 2, No. 3. Montevideo-Uruguay, Pp. 252-255, Diciembre 2006

HERNÁNDEZ, Yesica. “Manejo y sujeción de roedores utilizados en el laboratorio”. (Tesis) (Med. Vet. Zotec.). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia Mich. 2009, Pp. 7-28

INGRAHAM, John y otros. Microbiología. 2a ed. Barcelona, España. Reverté. 1992, Pp.635

INFLAMACIÓN PERITONEAL AGUDA. BELKIS, Alfonso. 2014

<http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00-off-0cirugia-0-10-0-0direct-10-4-0-11-11-ru-50-20-about-00-0-1-0-11-1-0gbk00&a=d&cl=CL1&d=HASH01e891a1eecb51a7923c6aff.5.2>
2014/10-12

INFLAMACIÓN AGUDA. OLIVEIRA, Emerson. 2012.

<http://resumenmedicina.blogspot.com/2012/04/inflamacion-aguda.html>
2014/11-07

INFLAMACIÓN. Guiainflamación. 2011.

<http://www.webdelprofesor.ula.ve/odontologia/carja/documentos/guiainflamacion.pdf>
2014/10-14

JOVER, Alejandro y otros. Manual del auxiliar de farmacia. España. MAD. 2003, Pp. 308

KUMAR, Vinay y otros. Patología Humana. 8a ed. Mexico. McGraw-Hill. 2008, Pp. 28-42

KUMAR, Vinay y otros. Patología estructural y funcional. Robbins y Cotran. 6a ed. España. Saunders Elsevier. 2010, P p.45

LEPIDIUM BIPINNATIFIDUM DONN. SM. BRASSICACEAE. Schneider. 2006
<http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/?controlador=ShowObject&accion=show&id=58995>

2014/10-18

LINARES, Eliana. Etnobotánica del transecto yura-chivay, departamento de arequipa. (Revista chilena de flora y fauna), Vol. 3, No. 1. Lima-Perú. Pp. 1, Junio 2000

LOCK, Olga. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. 2a ed. Perú. Universidad Católica. 1994. Pp. 45-60

MARÍN, Bladimir. Conocimiento tradicional e inventario de plantas medicinales en el corregimiento de San Cristóbal (municipio de Medellín, Antioquia). (Tesis) (Lic.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Medellín-Colombia. 2014, Pp. 45

MARTÍN, Duce. Patología Quirúrgica. Madrid-España. Elsevier. 2005. Pp. 50

MECANISMOS DE INFLAMACIÓN. URIBE, John. 2014
<http://slideplayer.es/slide/2343644/>

2014/10-18

MEDICAMENTOS DE VANGUARDIA. Dfarmacia. 2003

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet? f=37&id=13054411

2014/10-12

MENDOZA, Patiño. Farmacología Médica. Colombia. Médica Panamericana. 2008, Pp. 142-291

MONSALVE, Christian. Taxonomía y Distribución de la Familia Brassicaceae en la Provincia de Huaylas, Ancash. (Tesis) (Biól). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, E.A.P de Ciencias Biológicas. Lima-Perú. 2003, Pp. 28-50

MONSALVE, Crithian, y otros. La familia Brassicaceae en la provincia de Huaylas, Áncash. (Revista Peruana de Biología). Vol.10. No. 1. Lima- Perú. Pp. 3, Julio 2003.

MUÑOZ, Marisol. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa maría (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). (Tesis) (Biq. Far). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2014, Pp. 41-50

ORDI, Jaume. Anatomía patológica general. Barcelona. Florensa. 2012, Pp. 161-187

PATOLOGIA. JAYME, Belén. 2014.

<http://belenjaymepatologia.blogspot.com/>

2014/10-12

PONZ, Elizabet y otros. Uso de plantas en la medicina tradicional. La Paz-Bolivia. Fundación Pieb. 2005, Pp. 6

PROCESOS DE LA INFLAMACIÓN. GONZÁLES, Bordés y otros. 2010

<https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/266/1994-5.pdf?sequence=1>

2014/10-12

ROJAS, Montoya. Inmunología, 13a ed. Colombia: Quebercor Word. 2004, Pp. 79-87

RODRÍGUEZ, Jesús y otros. Toxicidad aguda oral e irritabilidad de la mucosa oral con una formulación de tabletas de *Tamarindus indica* L. (Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.) Vol. 12. No. 2. Santiago de Cuba. Pp. 3, Mayo 2012

SARAVIA, Amarallis. Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro. Guatemala. Universitaria. 2005, Pp. 65-102

SÁIS, Laureano y otros. Animales de laboratorio: CRÍA, MANEJO Y CONTROL SANITARIO. Madrid. Neografis. 1983. Pp. 98

SARIÉ, Marica y otros. Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of flavonoids and Phenolic Acids. (Chromatographic Chemical), Vol. 77, N° 1-2. Zagreb-Croatia. Pp. 363-364. Octubre 2003

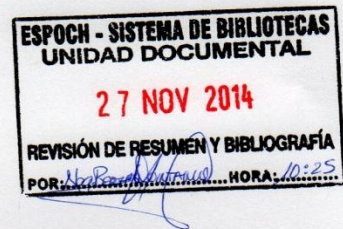
SIÑANI, Gladis. Determinación de la actividad antiinflamatoria e interacción de extractos de la planta Kiswara (*Buddleja Coriácea Rémy*) con dexametasona, mediante los ensayos de edema plantar y auricular en modelo murino. (Tesis). (Lic. Bioq). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Carrera de Bioquímica. La Paz Bolivia. 2009, Pp. 54-55

TORRES, Luis. Tratado de Anestesia y Reanimación. España. Arán. 2001, Pp. 793

TORRE, Lucia y otros. Usos medicinales de las plantas. Quito-Ecuador. Herbario. 2008, Pp. 105-109

WAGNER, Hildebert y otros. Plant Drug Analysis. 2a ed. A Thin Layer Chromatography Atlas. Alemania. Springer. 1996, Pp.116

YÁNEZ, Gabriela. Y otros. Investigación de la actividad antimicrobiana y fitoquímica de extractos de plantas medicinales frente a los microorganismos patógenos Escherichia coli y Cándida albicans. (Tesis) (Ing. Bioq). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato – Ecuador. 2014, Pp. 2-3



CAPÍTULO VI

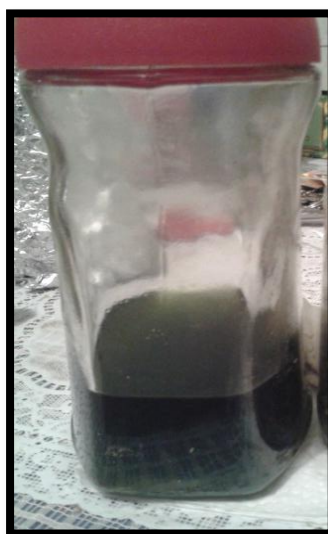
6. ANEXOS

ANEXO No. 1. MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA No. 1. MATERIA PRIMA SECADA Y TRITURADA ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)

ANEXO No. 2. OBTENCIÓN DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS



FOTOGRAFÍA No. 2. MACERACIÓN DE LA MATERIA PRIMA (*Lepidium bipinnatifidum*)



FOTOGRAFÍA No. 3. EVAPORACIÓN DEL SOLVENTE DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERÁ

ANEXO No. 3. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA DE ALLPA ATSERÁ



FOTOGRAFÍA No. 4. SÓLIDOS TOTALES

**ANEXO No. 4. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA
ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)**

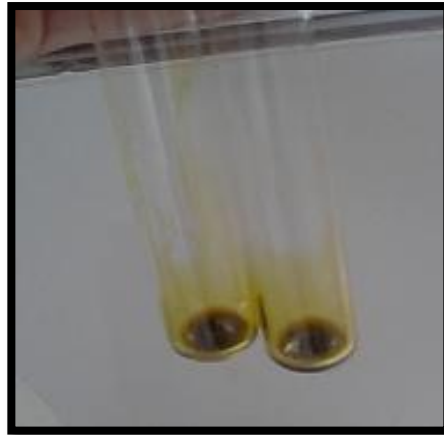


FOTOGRAFÍA No.5. REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

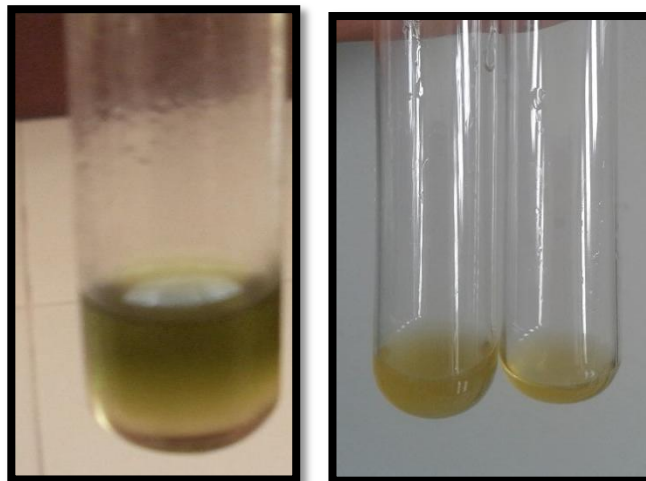


FOTOGRAFÍA No.6. DETERMINACIÓN DEL pH

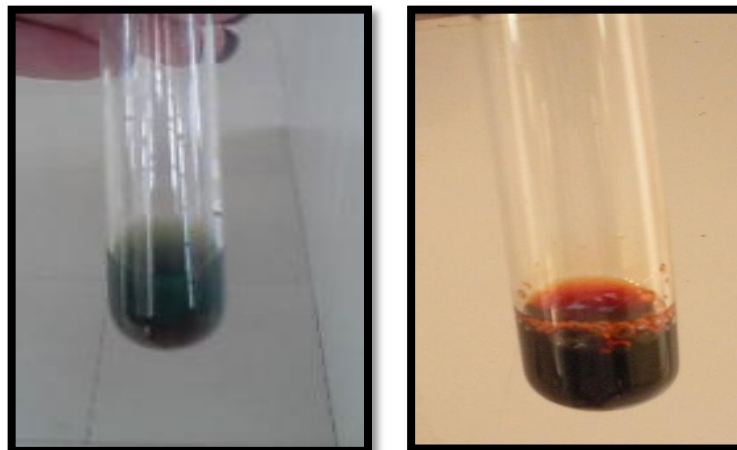
ANEXO No. 5. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS Y TALLO (*Lepidium bipinnatifidum*)



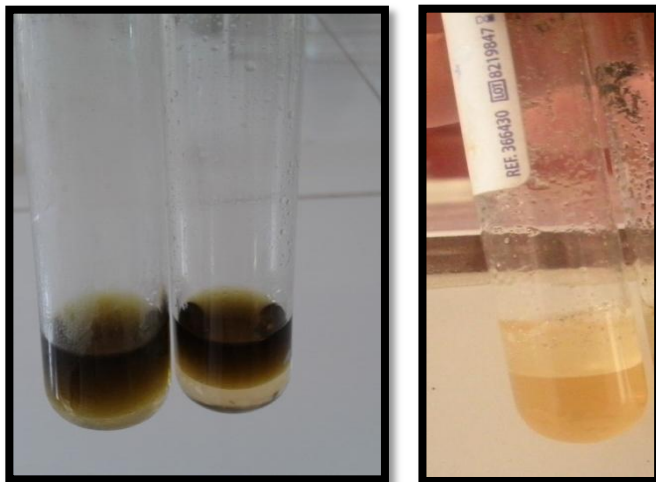
FOTOGRAFÍA No. 7. ENSAYO DE DRAGENDORFF



FOTOGRAFÍA No. 8. ENSAYO DE MAYER



FOTOGRAFÍA No.9. ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO



FOTOGRAFÍA NO.10. ENSAYO DE SHINODA



FOTOGRAFÍA No.11. ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS



FOTOGRAFÍA No.12. ENSAYO DE ESPUMA

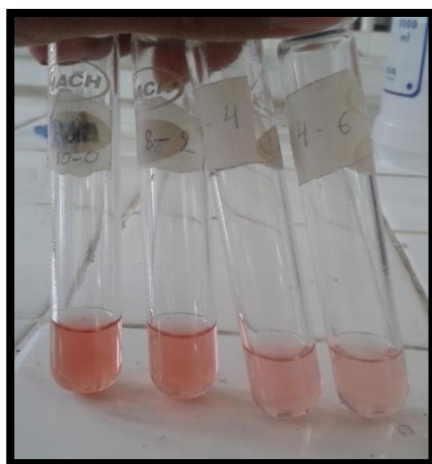


FOTOGRAFÍA No.13. ENSAYO DE FEHLING

ANEXO No. 6. CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES

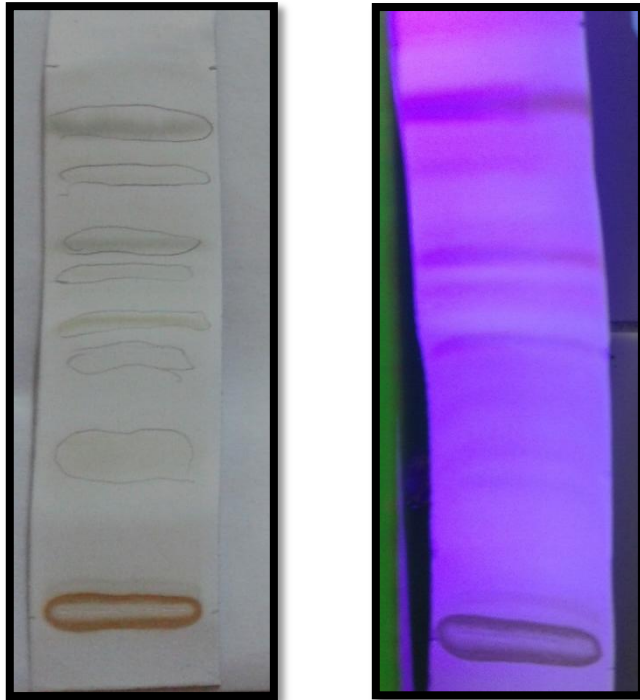


FOTOGRAFÍA No.14. LECTURA DEL EXTRACTO ETANÓLICO



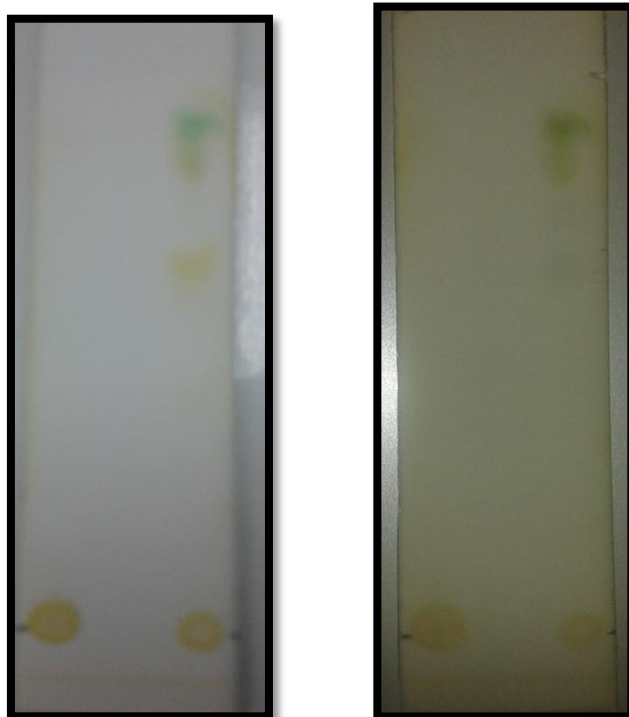
FOTOGRAFÍA No.15. LECTURA DEL ESTÁNDAR

ANEXO No.7. CROMATOGRÁFICO DE FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA No.16. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA FLAVONOIDES

ANEXO No. 8. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ALCALOIDES



FOTOGRAFÍA No. 17. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA ALCALOIDES

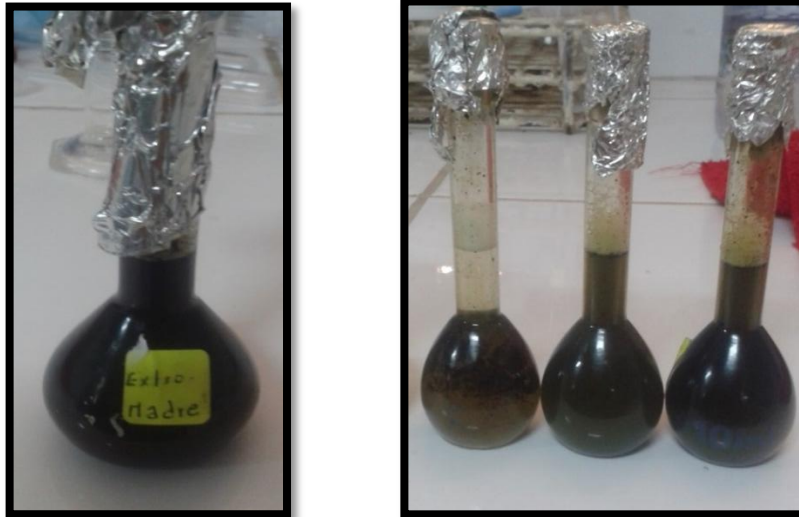
**ANEXO No. 9. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE ALLPA
ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)**



FOTOGRAFÍA No. 18. GRUPOS EXPERIMENTALES RATAS



FOTOGRAFÍA No. 19. PESOS DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 20. DISOLUCIONES DEL EXTRACTO DE ALLPA ATSERA



FOTOGRAFÍA No. 21. INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR EN RATAS



FOTOGRAFÍA No. 22. ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS VÍA ORAL



FOTOGRAFÍA No. 23. MEDICIÓN DEL VOLUMEN PLANTAR

ANEXO No. 10. EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DL EXTRACTO ETANÓLICO DE ALLPA ATSERA (*Lepidium bipinnatifidum*)



FOTOGRAFÍA No. 24. EUTANASIA DE RATAS CON CO2



FOTOGRAFÍA No. 25. DISECCIÓN DE LAS RATAS

ANEXO No. 11. ANÁLISIS MACROSCÓPICO DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 26. EXTRACCIÓN DE LOS ÓRGANOS INTERNOS A INVESTIGAR

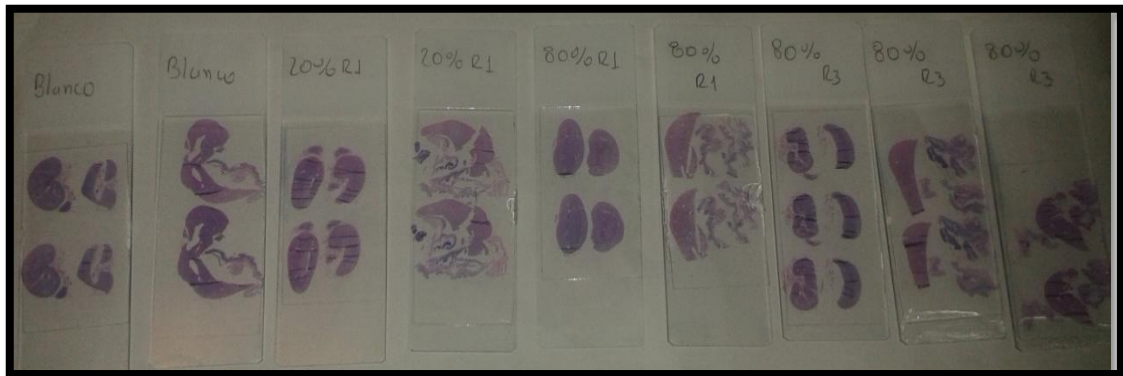


FOTOGRAFÍA No. 27. ÓRGANOS EXTRAÍDOS A INVESTIGAR



FOTOGRAFÍA No. 28. ÓRGANOS EN FORMOL AL 10%: RIÑÓN, HÍGADO Y ESTÓMAGO DE RATAS

ANEXO No. 12. ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DEL RIÑÓN, HÍGADO Y ESTÓMAGO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*).



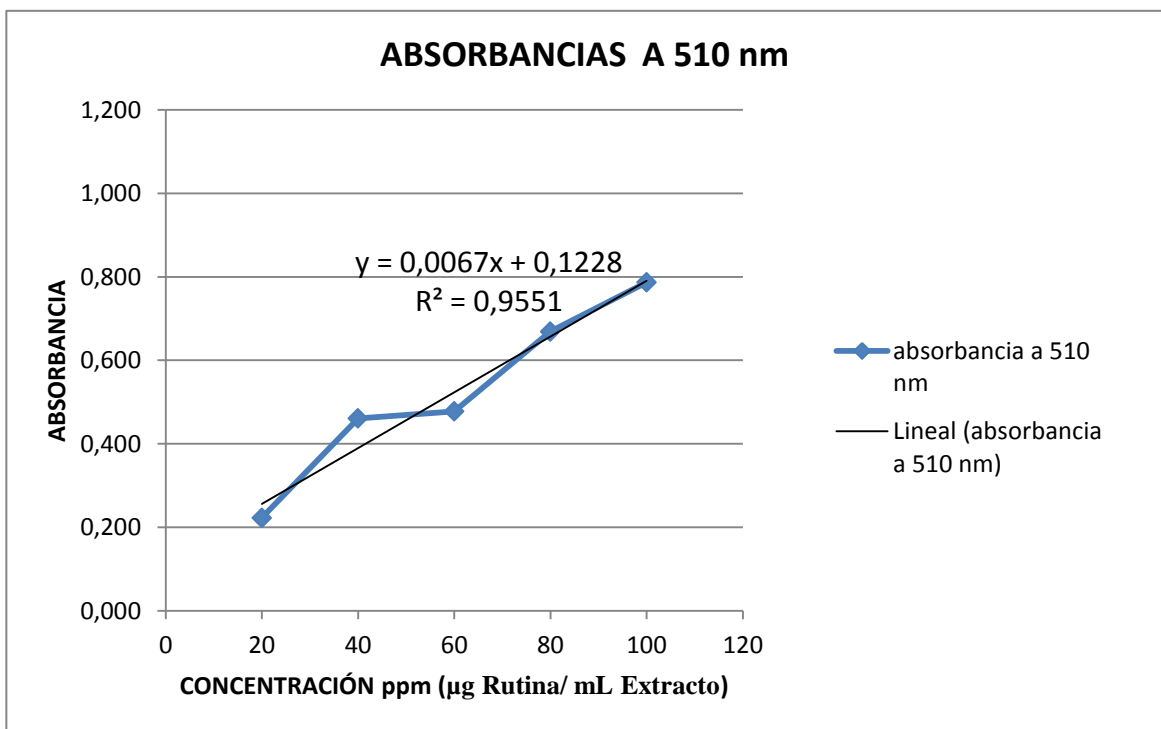
FOTOGRAFÍA No. 29. PLACAS FIJADAS DEL RIÑÓN, HÍGADO Y ESTÓMAGO PARA LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA



FOTOGRAFÍA No.30. EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DEL RIÑÓN, HÍGADO Y ESTÓMAGO DE RATAS

ANEXO No. 13. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES UTILIZADO COMO ESTÁNDAR LA RUTINA A DIFERENTES CONCENTRACIONES. LABORATORIO DE QUIMICA INSTRUMENTAL, FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA A 510 nm
20	0,223
40	0,461
60	0,478
80	0,669
100	0,787



ANEXO No. 14. EXTRACCIÓN SUCESIVA DE LA MATERIA PRIMA PARA LA APLICACIÓN DE DIFERENTES PRUEBAS. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

