



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

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
DE *Kalanchoe pinnata* MEDIANTE INHIBICIÓN DE EDEMA
PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATAS (*Rattus
norvegicus*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: MARISELA DEL ROCÍO CUCURÍ PUSHUG

TUTORA: DRA. SUSANA ABDO

Riobamba-Ecuador

2017

©2017, Marisela del Rocío Cucurí Pushug

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

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE *Kalanchoe pinnata* MEDIANTE INHIBICIÓN DE EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”**, de responsabilidad de la señorita Marisela del Rocío Cucurí Pushug, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo López

**DIRECTORA DE TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Diego Vinuesa Tapia

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Yo, MARISELA DEL ROCÍO CUCURÍ PUSHUG declaro que 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.

MARISELA DEL ROCÍO CUCURÍ PUSHUG

C.I. 060502226-8

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a Dios quien con su infinita bondad me ha cobijado y acompañado todos los días de mi vida.

A mi padre Arturo Cucurí quien con su amor y ejemplo me ha ensaño que los sueños y las metas se pueden cumplir siempre y cuando uno se constante y trabaje por ello.

A mi madre María Pushug que con su alegría, amor, esfuerzo y dedicación me ha fortalecido en los momentos más difíciles.

A mis hermanas Miriam y Elvita mis compañeras de vida, por quienes cada sacrificio vale la pena.

A mis amigas y amigos quienes me han dado su apoyo incondicional en todo momento y que con el paso del tiempo se han convertido en una familia para mí.

Marisela

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco infinitamente a dios por que ha sido la luz que ha iluminado mi camino y que gracias a él hoy puedo terminar una etapa de mi vida con salud y alegría.

A mis padres y hermanas quienes se han esforzado por darme siempre lo mejor, porque jamás han cortado mis alas y porque han sido el pilar fundamental de mi vida por ellos y para ellos es este logro.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en especial a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por haberme acogió en su seno durante muchos años.

De manera especial quiero plasmar mi más sincero agradecimiento y estima a mi tutora de tesis Dra. Susana Abdo, quien ha sido mi guía durante todo este proceso, que ha confiado en mí pero que sobre todo me ha brindado la seguridad necesaria para hoy terminar con bien este trabajo. Igualmente al BQF. Diego Vinueza quien me presto toda la colaboración necesaria para el desarrollo del presente, ya que ha sabido impartir sus conocimientos de la mejor manera.

A mis amigas/os por haberme acompañado durante todo este tiempo quienes me brindaron su tiempo y confianza y de quienes siempre estaré agradecida.

Marisela

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	
1. MARCO TEORICO.....	3
1.1. Actividad antiinflamatoria	3
1.1.1. Inflamación	3
1.1.2. Tejidos implicados en la inflamación	3
1.1.3. Tipos de la inflamación.....	4
1.1.4. Fisiopatología de la inflamación.....	5
1.1.5. Fases de la inflamación.....	6
1.1.6. Mediadores de la inflamación.....	9
1.1.7. Mastocito	10
1.2. Antiinflamatorios.....	10
1.2.1. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).....	10
1.2.2. Diclofenaco.....	13
1.3. Biodiversidad en el Ecuador	14
1.3.1. Importancia	15
1.3.2. Perspectiva.....	15
1.3.3. Objetivos del buen vivir.....	16
1.4. Fitoterapia.....	16
1.4.1. Fitomedicamentos.....	17

1.5. Kalanchoe	17
1.5.1. Kalanchoe pinnata.....	17
CAPÍTULO II	
2. METODOLOGÍA	22
2.1. Lugar de investigación.....	22
2.2. Recolección del material vegetal	22
2.3. Reactivos Biológicos	22
2.3.1. Descripción	22
2.4. Equipos y Reactivos.....	22
2.4.1. Equipos	22
2.4.2. Reactivos.....	23
2.5 Técnicas y Métodos	24
2.5.1 Recolección de la materia vegetal.....	24
2.6 Control de Calidad de la materia prima	24
2.6.1 Determinación de cenizas totales.....	24
2.6.2 Determinación de cenizas solubles en agua.....	25
2.6.3 Determinación de cenizas solubles en ácido.....	25
2.6.4 Determinación de la Humedad.....	25
2.7 Tamizaje Fitoquímico	25
2.8 Obtención del extracto alcohólico	26
2.9 Parámetros de Calidad del Extracto Etanólico.....	27
2.9.1 Determinación de pH.....	27
2.10 Análisis Cromatográfico	27
2.10.1 Cromatografía en Capa Fina (TLC).....	27
2.11 Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales por Método Colorimétrico	28
2.12 Cuantificación de Fenoles Totales Mediante el Método de Folin-Ciocalteu	28
2.13 Capacidad Captadora de Radicales Libres por el Método de DPPH*	29

2.14 Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de <i>Kalanchoe pinnata</i> ...	29
2.14.1 Método de inducción de edema plantar con Carragenina	30
2.14.2 Tratamiento con extracto Etanólico de <i>Kalanchoe pinnata</i> y Controles.	30
2.14.3 Método de medición del área de las patas inflamadas	31
2.14.4 Modelo Experimental	31
2.14.5 Análisis Estadístico.....	32
 CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	
3.1. Análisis de la especie vegetal	33
3.1.1. Pruebas de control de calidad de la especie vegetal.....	33
3.1.2. Comprobación taxonómica e identificación botánica.....	33
3.2. Análisis físico químico cuantitativo	33
3.3. Determinación de los parámetros físicos y químicos del extracto alcohólico	34
3.4. Tamizaje Fitoquímico	34
3.5. Cromatografía en capa fina (TLC).....	37
3.5.1. Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Flavonoides.....	37
3.5.2. Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Terpenos	38
3.6. Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales por Método Colorimétrico.	38
3.7. Cuantificación de Fenoles Totales Mediante el Método de Folin-Ciocalteu.....	39
3.8. Capacidad Captadora de Radicales Libres por el Método de DPPH*	40
3.9. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de <i>Kalanchoe pinnata</i> <i>in vivo</i>	41
CONCLUSIONES	46
RECOMENDACIONES	47
 BIBLIOGRAFIA	
 ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación Taxonómica de <i>Kalanchoe pinnata</i>	18
Tabla 1-2: Tamizaje Fitoquímico del Extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i>	26
Tabla 2-2: Modelo Experimental	31
Tabla 1-3: Resultados del control de calidad de la droga cruda.....	33
Tabla 2-3: Parámetros Físicos y Químicos del extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i>	34
Tabla 3-3: Tamizaje Fitoquímico del Extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i>	35
Tabla 4-3: Tamizaje Fitoquímico del Extracto de <i>Eupatorium Glutinosum</i>	36
Tabla 5-3: Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales por Método Colorimétrico	39
Tabla 6-3: Cuantificación de Fenoles Totales Mediante el Método de Folin-Ciocalteu.....	39
Tabla 7-3: Capacidad Captadora de Radicales Libres por el Método de DPPH*	40
Tabla 8-3: Resultados de inflamación de los diferentes tratamientos expresados como área de inflamación en cm ²	41
Tabla 9-3: Resultados de la actividad antiinflamatoria expresada en porcentaje de inflamación.	42
Tabla 10-3: ANOVA de un factor en todas las horas	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: clasificación de antiinflamatorios no esteroidales según su selectividad para la ciclooxigenación	11
Figura 2-1: Clasificación de los aines según su estructura química.....	11
Figura 3-1: clasificación de los aines según su vida media plasmática.....	12
Figura 4-1: Mapa del ecuador con sus regiones naturales	15
Figura 5-1: Floración de <i>Kalanchoe pinnata</i> jardín botánico puerto cruz-tenerife.....	17
Figura 6-3: Cromatografía en capa fina de <i>kalanchoe pinnata</i>	37
Figura 7-3: Cromatografía en capa fina de <i>kalanchoe pinnata</i>	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Porcentaje de inflamación del edema inducido con carragenina durante la evaluación de la actividad antiinflamatoria de las dosis de <i>Kalanchoe pinnata</i> y sus diferentes controles	43
Gráfico 2-3: Comparación del porcentaje de inflamación de las dosis 100 y 300 del extracto alcohólico de <i>Kalanchoe pinnata</i> versus los controles positivos matico y diclofenaco	44

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Obtención de certificado del herbario de la ESPOCH

ANEXO B. Lugar de recolección “Parque Ecológico -Riobamba”

ANEXO C. Recolección de *Kalanchoe pinnata*

ANEXO D. Secado de la materia prima

ANEXO E. Molienda de la materia prima

ANEXO F. Determinación de cenizas y humedad por método gravimétrico

ANEXO G. Determinación de pH

ANEXO H. Tamizaje fitoquímico

ANEXO I. Maceración del material vegetal con alcohol al 96%

ANEXO J. Concentración del extracto alcohólico de *kalanchoe pinnata*

ANEXO K. Cromatografía en capa fina de *Kalanchoe pinnata* y *Eupatorium glutinosum*

ANEXO L. Cromatografía capa fina para flavonoides de *Kalanchoe pinnata* y *Eupatorium glutinosum*

ANEXO M. Cromatografía capa fina para terpenos de *Kalanchoe pinnata*

ANEXO N. Soluciones de quercetina para cuantificación de Flavonoides

ANEXO O. Preparación de las muestras para cuantificación de flavonoides

ANEXO P. Cuantificación de radicales libres por el método de DPPH*

ANEXO Q. Limpieza y desinfección de tamo

ANEXO R. Distribución y cuidado de los animales de experimentación

ANEXO S. Animales de experimentación *Rattus norvegicus*

ANEXO T. Tabla de dosificación para los animales de experimentación

ANEXO U. Extractos vehiculizados en forma de suspensión

ANEXO V. Inducción del edema con carragenina al 1% en suero fisiológico

ANEXO W. Administración de las dosis por vía oral

ANEXO X. Tabla general del ANOVA para todas las horas evaluadas

ANEXO Y. Análisis de DMS para la hora 7

ANEXO Z. Tabla de Tukey B para el tiempo 7

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la actividad antiinflamatoria de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) mediante inhibición de edema plantar inducido con carragenina en ratas. Se realizaron maceraciones sucesivas con etanol al 96% y mediante concentración en rotavapor se obtuvo un extracto blando que posteriormente fue vehiculizado en forma de suspensión en dosis de 25, 100 y 300 mg/Kg. Para evaluar la capacidad antiinflamatoria del extracto alcohólico se indujo una inflamación en la pata derecha de la rata con la ayuda de carragenina al 1% Intraperitoneal (IP), la medición se la realizó con el programa *ImageJ* el cual permite calcular el área de la pata inflamada a diferentes horas, el tratamiento de los datos se lo hizo con el programa estadístico IBM SPSS statistics v.23. El extracto obtenido tuvo un rendimiento del 17,79% y un pH de 2,55; con el tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos y flavonoides; también exhibió una concentración de 1,586 mgEQ/mL, 57,723 mgEQ/mL, 21,319 µg/mL en la cuantificación de flavonoides, fenoles y actividad antioxidante respectivamente. Con este estudio se concluye que el extracto de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) tiene actividad antiinflamatoria, que es más visible en la hora 7 y efectiva a la dosis de 300 mg/Kg el mismo que fue administrado por vía oral y que presenta un porcentaje de inflamación del 60,05%. Se recomienda un estudio etnobotánico y toxicológico de la especie naturalizada en el Ecuador.

Palabras clave: <FARMACOLOGÍA>, <FITOQUÍMICA>, <HOJA DE AIRE (*Kalanchoe pinnata*)>, <CRASULACEAS (FAMILIA)>, <METABOLITOS SECUNDARIOS>, <TERPENOS>, <FLAVONOIDES>, <FITOTERAPIA>, <INFLAMACIÓN AGUDA>

SUMMARY

The aim of this investigation was to determine the anti-inflammatory activity of the leaves of *Kalanchoe Pinnata* (Lam.) by inhibition of plantar edema induced with carrageenan in rats. Successive macerations were carried out with 96% ethanol by rotary evaporator concentration. A soft extract was obtained, which was subsequently conveyed as suspension in doses of 25,100 and 300 mg / Kg. To evaluate the anti-inflammatory capacity of the alcoholic extract, an inflammation in the right paw of the rat was induced with the aid of carrageenan to 1% Intraperitoneal (IP), the measurement was performed with the *Image J*. It is a program which allows to calculate the area of the inflamed paw at different hours, the treatment of the data was done with the statistical program IBM SPSS statistics v.23. The extract obtained had a yield of 17.79% and a pH of 2.55; with phytochemical screening, the presence of alkaloids, triterpenes, steroids, phenols, tannins and flavonoids. It also exhibited a concentration of 1,586 mg EQ / mL, 57, 723 mgEQ / mL, 21,319 µg / mL in the quantification of flavonoids, phenols and antioxidant activity respectively. This study concludes that the extract of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) has anti-inflammatory activity, which is more visible at time 7 and effective at the dose of 300 mg / kg, which was administered orally and has a percentage of inflammation of 60.05%. An ethno botanical and toxicological study of the naturalized species in Ecuador is recommended.

Key words: <PHARMACOLOGY>, < PHYTOCHEMICAL>, < AIR LEAF (*Kalanchoe pinnata*)>, < CRASULACEAS (FAMILY)>, <SECONDARY METABOLITES>, < TERPENES>, < FLAVONOIDS >, <ACUTE INFLAMMATION>

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los procesos inflamatorios se han convertido en una de las afecciones más frecuentes a nivel mundial, debido a la presencia de factores físicos, químicos y microbiológicos que actúan significativamente sobre la salud de las personas.

La inflamación puede definirse como una reacción que el organismo genera, como mecanismo de defensa local, presenta cuatro signos principales: enrojecimiento, edema, calor y dolor. (CHUAQUI B, et al, 2016)

La magnitud de una respuesta inflamatoria depende principalmente del sitio, la proporción y el tiempo de exposición con el agente causal, que ejerce un daño sobre el organismo. (Gómez, 2011) Debido a la gran cantidad de casos que se generan anualmente se han realizado varios estudios farmacológicos, que permiten crear oportunidades para tratar dicha problemática de mejor manera. En el mercado existen muchos medicamentos que sirven para aliviar los procesos inflamatorios entre ellos encontramos a los AINES y los Glucocorticoides que son los dos grupos representativos de antiinflamatorios, pero la mayoría producen efectos no deseados sobre el paciente generando en algunos casos un daño mayor.

Gracias a que la comunidad científica está dirigiendo su mirada hacia el cuidado y aprovechamiento de los recursos naturales, se ha podido tomar en cuenta el potencial antiinflamatorio de determinados componentes procedentes de especies vegetales a nivel mundial, se espera que no genere daño alguno sino más bien procure la mejora del paciente.

Siendo el Ecuador uno de los países con una variedad de climas, su fauna y flora presenta una gran gama de especies nativas, así como también de otras introducidas que se adaptan y se desarrollan fácilmente en nuestro entorno, muchas de estas se han destacado por las diversas propiedades, que cada una puede brindar para el mejoramiento de la salud de la población. Es por lo explicado, que se desea determinar la posible actividad antiinflamatoria de *Kalanchoe pinnata* una especie vegetal naturalizada en nuestro país que se desarrolla en mayor cantidad en la sierra andina y en la región insular.

La variedad de *Kalanchoe pinnata* (Lam.), es fácil de encontrar ya que es visible en forma de arbusto, capaz de almacenar gran cantidad de agua tanto en sus hojas como en el tallo, se presenta en gran cantidad y en todas las épocas del año, es propia de Madagascar pero se desarrolla ampliamente en los países sudamericanos, con mayor presencia en Colombia, Ecuador y Perú.

K. pinnata conjuntamente con *Kalanchoe daigremontiana* y *Kalanchoe gastonis-bonnierei* son consideradas las tres plantas más sobresalientes del género *Kalanchoe* a nivel de fitoterapia y por ende las más estudiadas, existe alrededor de 125 especies más pero que aún no son analizadas.

Actualmente no se encuentran muchos estudios de esta planta en nuestro país debido a que no existe una difusión acerca de las utilidades de la misma, las pocas personas que conocen de sus propiedades medicinales la utilizan en infusiones; en otros partes del mundo es ampliamente estudiada y ya existe propiedades comprobadas por ejemplo se sabe que son buenos antihemorrágicos, cicatrizantes, febrífugos, etc. Estudios recientes demuestran que esta especie tiene un alto potencial antitumoral y anticancerígeno.

En nuestro país no hay estudios realizados sobre la actividad antiinflamatoria, a pesar de ello, en Colombia se realizó un estudio similar de esta especie la cual fue comparada con *Caléndula officinalis* y Diclofenaco de marca MERCK. (Siddhartha, 1990, pp. 6-7)

Mientras tanto Azafal et al, (2012 pp. 857) aísla esteroides capaces de generar actividad antiinflamatoria obteniendo un porcentaje de inhibición de edema de un 87,29% y 84,45% todo esto en comparación con el Diclofenaco. Así también al aislar compuestos específicos de *K. pinnata* como el 2-(3,4-dihidroxyfenil)-3, 5,7-trihidroxi-4h H fenilcromen-4-ona el cual es un flavonoide extraída del tallo genera efecto a la dosis de 400 mg/kg. (Chaturvedi, 2012)

Tomando en cuenta estas pautas, se realizó una investigación que ha permitido complementar la información obtenida en estudios anteriores y demostrar que una de las propiedades más importantes de esta especie es la actividad antiinflamatoria.

El presente trabajo también ha buscado impulsar el estudio de las plantas medicinales presentes en nuestro país e incrementar la matriz productiva de una manera que no solo la economía mejore sino que también pueda superarse a nivel social, educativo y cultural, siempre y cuando se sepa aprovechar los recursos de una manera adecuada y oportuna.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. Actividad antiinflamatoria

1.1.1. *Inflamación*

La palabra inflamación viene del latín *inflammatio* que significa hacer fuego o encender, en medicina se utiliza el sufijo *-itis* para referirse a este término, es una de las maneras en la que varias enfermedades se manifiestan y es considerada como la respuesta del sistema inmune frente a estímulos biológicos (bacterias, hongos y virus), estímulos químicos (alérgenos y toxinas) o agresiones (lesión, infección o traumatismo). (Arthritis Foundation, 2016) (Bordés et al., pp. 1) (García, 2008, pp. 91-92) (Villalba, 2014, pp, 1)

El objetivo primordial de la inflamación es aislar y destruir el agente dañino además de reparar el tejido u órgano afectado, es causada por agentes inflamatorios y ocurre en los tejidos conectivos vascularizados; ocasiona enrojecimiento, dolor, calor y rigidez de la zona afectada. (Bordés et al., pp. 1) (CCM Salud, 2017) (Villalba, 2014, pp.1-2)

Se puede sospechar de una inflamación cuando ocurre un incremento de la proteína C reactiva (PCR) y un incremento del número de glóbulos blancos en la sangre, para el tratamiento de las inflamaciones se utilizan fármacos antiinflamatorios entre estos tenemos los corticoides y antiinflamatorios no esteroideos. (CCM Salud, 2017)

1.1.2. *Tejidos implicados en la inflamación*

Los tejidos implicados en una inflamación son:

- ✓ **Sangre:** Provee de células que acuden a la zona inflamada y participan en la respuesta inflamatoria, además el plasma contribuye con las proteínas del sistema de activación del complemento y los anticuerpos. (Castell, 2005)
- ✓ **Endotelio vascular:** Provee moléculas que controlan la reactividad vascular y el intercambio de plasma, en su superficie se encuentran las moléculas de adhesión para que así las células acudan al intersticio celular. (Castell, 2005)

✓ **Células del tejido conectivo:** Dentro de estas se encuentran los fibroblastos y los macrófagos. (Castell, 2005)

1.1.3. *Tipos de la inflamación*

La inflamación se clasifica teniendo en cuenta lo siguiente:

✓ Según la duración

Agudas: Constituye una respuesta inmediata ante la presencia de un agente dañino y es de corta duración, ocurre en la microcirculación, los fagocitos intentan destruir el agente dañino segregando sustancias mediadoras que actúan sobre las células endoteliales y provocan alteraciones de la permeabilidad de los vasos sanguíneos permitiendo que los leucocitos lleguen a la zona inflamada para que se inicie la fagocitosis. (Vega, 2008, pp. 220)

Crónicas: Ocurre cuando la inflamación aguda no ha logrado eliminar el estímulo que lo produce, por infecciones persistentes o autoinmunidad, por lo cual ocurre una infiltración de células mononucleares, destrucción tisular e intentos de reparar el tejido lesionado por fibrosis o angiogénesis, esta inflamación es de prolongado tiempo. (González et al, 2011, pp.210) (Villalba, 2014, pp.1-2)

✓ Según el carácter del exudado

Trasudado: Se presenta líquido inflamatorio extravascular con poca cantidad de proteínas debido a una alteración en la permeabilidad vascular.

Exudado: Se presenta líquido inflamatorio extravascular con gran cantidad de proteínas a causa de una elevada permeabilidad vascular.

✓ Según la etiología

Infeciosas: Cuando son ocasionadas por virus, bacterias, parásitos o sus toxinas.

Traumáticas: En el caso de golpes o traumas.

Térmicas: Ocasionadas por alguna quemadura.

Irradiaciones o exposición a agentes químicos ambientales

Presencia de algún cuerpo extraño

Necrosis tisular

Inmunitarias: Cuando se producen reacciones de hipersensibilidad a ciertos alérgenos.

- ✓ Según sus características morfológicas

Serosa: Cuando hay presencia de líquido tisular con baja cantidad de proteínas.

Fibrinosa: Si hay presencia de líquido tisular rico en fibrinógeno y fibrina.

Supurativa: Cuando el exudado contiene leucocitos y células necróticas.

Abscesos: En caso de que el tejido afectado presente purulencia y necrosis licuefactiva.

Úlceras: En caso de que el tejido necrótico se gangrene.

- ✓ Según su localización

Focales: Cuando ocurre en un lugar específico y para referirse a este tipo de inflamación se emplea el sufijo *-itis*. (Villalba, 2014, pp.2)

Diseminados: Si es que la inflamación es persistente y se propaga tanto por vía canalicular, fistulización o metástasis. (Villalba, 2014, pp.2)

1.1.4. *Fisiopatología de la inflamación*

Entre los cambios fisiopatológicos que se producen tras una inflamación tenemos:

- ✓ **Cambios vasculares:** Los vasos sanguíneos cambian tanto en su calibre como en el flujo de sangre que transportan lo cual permite que las proteínas y células plasmáticas lleguen a la zona inflamada desde la sangre. En primer lugar ocurre la vasodilatación inducida por la histamina, se incrementa la permeabilidad microvascular, los líquidos del espacio intravascular salen hacia el espacio extravascular formándose un edema. (Villalba, 2014, pp.3)

Los cambios vasculares disminuyen la velocidad sanguínea que junto a la salida del líquido intravascular, incremento de glóbulos rojos y de la viscosidad sanguínea originan la éstasis que a su vez margina a los leucocitos que normalmente circulan por la parte céntrica de los vasos sanguíneos.

- ✓ **Cambios celulares:** Los glóbulos blancos se trasladan desde la sangre a la zona lesionada para iniciar con la fagocitosis del patógeno, a este proceso se lo conoce como extravasación. (Villalba, 2014, pp.3)

Los leucocitos llegan a la zona lesionada por las uniones interendoteliales y saben hacia dónde dirigirse debido a los agentes quimiotácticos los cuales producen una activación de los leucocitos.

Una vez que los leucocitos se han activado inician la fagocitosis del agente agresor para lo cual primero ocurre un reconocimiento y unión de partículas, interiorización con formación de vacuola fagocítica y la degradación o muerte del material patógeno con lo cual los mecanismos antiinflamatorios concluyen el proceso. (Villalba, 2014, pp.3)

Finalmente cuando el agente agresor fue eliminado, el exudado se reabsorbe y los tejidos destruidos se regeneran de manera completa, por reemplazo de tejido conectivo o en ciertos casos ocurrirá una inflamación crónica. (Villalba, 2014, pp.3)

1.1.5. Fases de la inflamación

La inflamación consta de cinco etapas que son las siguientes:

✓ **Liberación de mediadores de la inflamación:** En el momento en el que ocurre la inflamación en la zona lesionada se depositan factores activados del complemento (C3a y C5a) que actúan a nivel de los receptores de membrana, ocasionando así que el mastocito se active y libere los mediadores de la inflamación y unos factores de carácter lipídico. (Villalba, 2014)
Por otro lado el mastocito también se puede activar a través de la inmunoglobulina E (IgE) la cual es captada en su membrana gracias a que la misma cuenta con receptores especializados; cuando un antígeno se conecta con dos IgE adyacentes en la membrana se activa el mastocito.

A nivel bioquímico en la membrana se activa la adenilato-ciclasa que aumenta el contenido intracitoplasmático de cAMP y la fosfolipasa A2 que genera ácido araquidónico a partir de los lípidos que se encuentran en la membrana. (Villalba, 2014)

La permeabilidad de la membrana al ión Ca^{++} incrementa y por ende también lo hace su concentración en el citoplasma que junto con el cAMP ayudan a que se formen microtúbulos en el mastocito y el movimiento de los gránulos citoplasmáticos hacia la membrana celular con la cual se fusionan y se produce la liberación de los mediadores de la inflamación al espacio extracelular.

Los mediadores preformados en los gránulos citoplasmáticos son la histamina, enzimas proteolíticas, factor quimiotáctico del eosinófilo (ECF-A), factor quimiotáctico del neutrófilo (NCF) y heparina. (Villalba, 2014)

El ácido araquidónico puede seguir la vía metabólica de la enzima ciclo-oxigenasa produciendo prostaglandinas (PG) y tromboxanos o la vía metabólica de la lipooxigenasa formando así leucotrienos (LT), todas estas sustancias sintetizadas de novo por el mastocito constituyen también un grupo secundario de mediadores de la inflamación. (Villalba, 2014)

Además hay que tener en cuenta que al producirse la inflamación el basófilo también acude a la zona afectada, se activa de la misma manera que lo hace el mastocito y libera mediadores de la inflamación.

- ✓ **Efecto de los mediadores:** Originan alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que ayudan a que ciertas moléculas y células inmunes lleguen al lugar de inflamación.
- ✓ **Llegada de las moléculas y células inmunes a la zona inflamada:** Estas provienen de la sangre y de las zonas que rodean al foco inflamatorio.

Fase inicial: En la primera fase de la inflamación llegan las moléculas de la sangre hacia la zona afectada entre estas tenemos:

- ✓ **Inmunoglobulinas:** Los anticuerpos combaten la infección causada por los gérmenes o sus toxinas, la IgM e IgG activan el complemento, la IgG se une a los fagocitos generando la fagocitosis. (Villalba, 2014)
- ✓ **Factores del complemento:** Otra manera por la que se puede activar el complemento es mediante las sustancias que los gérmenes liberan, una vez este se active ocasiona la lisis del virus o bacteria responsable de la inflamación. Los factores C3a y C5a actúan en los receptores de membrana lo cual activa al mastocito y basófilo y ocasionando la liberación de mediadores, por último el factor C3b se une a los receptores de membrana de los fagocitos reforzando la fagocitosis. (Villalba, 2014)
- ✓ **Kininógenos:** Moléculas que se convierten en kininas cuando reciben la acción de las kininogenasas liberadas por el mastocito y basófilo.
- ✓ **Proteína C Reactiva (PCR):** Se encarga de fijar ciertos microorganismos y activar el complemento.
- ✓ **Factores de la coagulación**

Fase tardía: En esta fase las células inmunes llegan desde la sangre a la zona inflamada.

- ✓ **Basófilo:** Libera mediadores de la inflamación.
- ✓ **Neutrófilo:** Ocasiona la muerte extracelular de los microorganismos a través de la fagocitosis o de los factores tóxicos que libera de sus gránulos citoplasmáticos.
- ✓ **Monocito y Macrófago:** El primero proviene de la sangre mientras que el macrófago de los tejidos adyacentes, el monocito se convierte en macrófago en los tejidos y realiza funciones

similares a las del neutrófilo, se encarga de presentar al antígeno ante las células T y B para que de esta manera se inicie la respuesta específica. (Bordés et al., pp. 3)

El macrófago produce la interleucina 1 (IL-1) que es una hormona del sistema inmune que induce la aparición de fiebre, la producción y liberación de neutrófilos desde la médula ósea y el aumento de la síntesis de proteínas a nivel del hígado.

En la zona afectada la interleucina contribuye al incremento de las células T y B y su diferenciación, además del incremento de fibroblastos, induce la formación del colágeno los cuales contribuyen a la reparación de la inflamación.

- ✓ **Linfocitos T y B:** Permiten que la respuesta específica comience, las células B originarias de los tejidos linfoides relacionados con las mucosas producen la inmunoglobulina E, las cuales al unirse al mastocito o basófilo agravarían la inflamación; en cambio las células T producen linfoquinas que hacen que la inflamación se prolongue en una respuesta inmune mejor elaborada. (Bordés et al., pp. 3)
- ✓ **Eosinófilo:** Es una célula encargada de la regulación de la inflamación.

Regulación del proceso inflamatorio: Los mecanismos inhibidores finalizan o equilibran el proceso inflamatorio. Ciertos mediadores que ocasionan la activación, cuando varían en concentración o en sus receptores dan lugar a la inhibición modulando la respuesta inflamatoria, entre estos tenemos:

- ✓ **Histamina:** Actúa sobre los receptores H₂, inhibe tanto la liberación de los mediadores de la inflamación desde el mastocito y basófilo como la quimiotaxis y por otro lado activa las células T supresoras. (Bordés et al., pp. 3)
- ✓ **PGE:** Inhibe tanto la liberación de los mediadores de la inflamación desde el mastocito y basófilo como el incremento y diferenciación de linfocitos.
- ✓ **Agonistas autonómicos:** Tanto el mastocito como el basófilo presentan receptores α y β -adrenérgicos y colinérgicos por tanto la liberación de mediadores está regulada de manera autonómica; es así que cuando se activa el receptor β -adrenérgico ocurre una inhibición mientras que si se activa el receptor α -adrenérgico y colinérgico ocurre una estimulación en la liberación de los mediadores de la inflamación. (Bordés et al., pp. 3)
- ✓ **Heparina:** Se encarga de inhibir la coagulación y la activación de los factores del complemento.
- ✓ **Eosinófilo:** Cuando se encuentra en la zona inflamada libera varias enzimas que degradan ciertos mediadores que potencian la inflamación, como ejemplo tenemos a la histaminasa que degrada la histamina, la arilsulfatasa los leucotrienos y la fosfolipasa el PAF.

Reparación: Consta de una serie de fenómenos que permiten reparar el tejido lesionado, esto ocurre una vez que la causa de la inflamación desaparece o fueron eliminadas a través de la respuesta inflamatoria.

A la zona afectada llegan los fibroblastos los cuales proliferan y producen colágeno, luego se producen un aumento de las células epiteliales y de los vasos sanguíneos al interior de la herida. (Bordés et al., pp. 3)

1.1.6. Medidores de la inflamación

Los mediadores son moléculas elaboradas por el mastocito o el basófilo que se liberan cuando se presenta algún estímulo como por ejemplo ante un tejido lesionado.

Al comienzo de la inflamación los mediadores alteran los vasos sanguíneos lo cual permite que las moléculas lleguen a la zona inflamada desde la sangre originando el edema, posteriormente las alteraciones vasculares y los factores quimiotácticos liberados contribuyen a que las células inmunes de la sangre y tejidos cercanos lleguen a la zona afectada.

1.1.6.1. Medidores preformados

Histamina: Se encuentra primordialmente en el mastocito y basófilo, se origina de la descarboxilación del aminoácido histidina y actúa tanto a nivel de los receptores de la histamina 1 (H1) de los vasos sanguíneos ocasionando vasodilatación y aumento de la permeabilidad como a nivel de los receptores de la histamina 2 (H2) causando una inhibición o regulación de la inflamación.

Enzimas proteolíticas: La más importante es la kininogenasa que ejerce su acción sobre las proteínas de la sangre (kininógenos) causando su disolución en pequeños péptidos o kininas, estas últimas originan vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular y la aparición del dolor.

Factores quimiotácticos: El factor quimiotáctico del eosinófilo constituido de dos tetrapéptidos se encarga de atraer a los eosinófilos a la zona inflamada en donde se activan; de la misma manera el factor quimiotáctico del neutrófilo atrae a los neutrófilos y los activa.

Heparina: Es un anticoagulante que facilita a las moléculas y células de la sangre llegar a la zona inflamada.

1.1.6.2. Medidores sintetizados de novo

PGE2: Prostaglandina responsable de la vasodilatación y el dolor, esta sustancia junto con el factor C5a y LTB4 incrementan la permeabilidad vascular.

LTB4: Factor quimiotáctico para mastocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos.

Factor activador de plaquetas (PAF): Se encarga de activar las plaquetas ocasionando su agregación, la liberación de mediadores, el comienzo de la coagulación, vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular además de que activa a los neutrófilos. (Bordés et al., pp. 2)

1.1.7. *Mastocito*

Célula inmune inespecífica que proviene de la médula ósea, en su citoplasma se encuentran unos gránulos que contienen los mediadores de la inflamación preformados. Se encuentra presente en la mayoría de tejidos en especial en la cercanía de los vasos pequeños sobre los que actúan cuando los mediadores de la inflamación se liberan. (Bordés et al., pp. 2)

1.2. **Antiinflamatorios**

Son fármacos que ayudan a combatir o prevenir la inflamación de los tejidos, existen dos grupos de medicamentos antiinflamatorios que son:

- ✓ **Antiinflamatorios esteroideos:** Son medicamentos corticoides, hormonas elaboradas en la corteza adrenal, o corticoides naturales o semisintéticos, por vía oral o parenteral ocasionan efectos adversos o secundarios.
- ✓ **Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs):** Se agrupan de acuerdo al efecto que ejercen respecto a la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. (Pérez, 2017)

1.2.1. *Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)*

Grupo de medicamentos heterogéneos en los cuales se encuentran incluidos la aspirina y otros agentes inhibidores de la ciclo-oxigenasa (COX) tanto selectivos como no selectivos, constituyen uno de los grupos de medicamentos más prescritos a nivel mundial, se utilizan para tratar inflamaciones, dolor, edema, osteoartritis, artritis reumatoidea y disturbios musculoesqueléticos. (Batlouni, 2010, pp. 338)

A los antiinflamatorios no esteroideos no selectivos se les ha denominado como convencionales o tradicionales mientras que a los AINEs selectivos para la COX-2 se les ha denominado COXIBEs.

A continuación se presenta una tabla de clasificación de los antiinflamatorios no esteroideos de acuerdo a su selectividad para la ciclo-oxigenasa.

Antiinflamatorios no Esteroides Clasificación	
No Selectivos (COX-1 y 2) (tradicionales, convencionales)	Selectivos (COX-2) (COXIBEs)
Aspirina	Rofecoxib (Vioxx)
Acetaminofen	Valdecoxib (Bextra)
Indometacina (Indocid)	Parecoxib
Ibuprofeno (Motrin, Dalsy)	Celecoxib (Celebra)
Naproxeno (Naprosin)	Etoricoxib (Arcoxia)
Sulindac (Clinoril)	Lumiracoxib (Prexige)
Diclofenaco (Voltaren)	
Piroxicam (Feldene)	
β -Piroxicam (Cycladol)	
Meloxicam (Movatec)	
Cetoprofeno (Profenid)	

Figura 1-1: clasificación de antiinflamatorios no esteroidales según su selectividad para la ciclooxigenación

Fuente: (batlouni, 2010, pp. 338)

1.2.1.1. Clasificación de los AINEs

Los antiinflamatorios no esteroideos se clasifican de la siguiente manera:

- ✓ Según su estructura química

Grupo terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
Pirazonas	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
Arilacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Acido mefenámico, meclofenamato
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Figura 2-1: Clasificación de los aines según su estructura química

Fuente: (gómez, 2008, pp.470)

✓ Según su vida media plasmática

Analgésicos	Vida media corta (< 6 horas)	Vida media larga (> 6 horas)
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, acetilato de lisina	Diflunisal, fosofosal
Pirazonas	--	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín	Sulindaco
Arilacéticos	Diclofenaco,	Aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno	Naproxeno
Oxicams y análogos	--	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Inhibidores selectivos de la COX-2	--	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Figura 3-1: clasificación de los aines según su vida media plasmática

Elaborado por: (gómez, 2008, pp.470)

Los AINEs de vida media corta alcanzan niveles plasmáticos de una manera más rápida y a veces permiten disminuir la dosis total del medicamento, los AINEs de vida media larga en ocasiones son de una sola dosis diaria y pueden incrementar las interacciones con otros medicamentos y los efectos secundarios. (Gómez et al., 2008, pp.470-471)

1.2.1.2. Mecanismo de acción

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) impiden la función de la enzima ciclo-oxigenasa con lo cual disminuye la síntesis de prostaglandinas que actúan como mediadores de la inflamación a nivel periférico y central así como también de los tromboxanos formados a partir del ácido araquidónico.

Los AINEs inhiben la prostaglandina sintetasa lo cual afecta la transformación del ácido araquidónico en prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano. (Gómez et al., 2008, pp.469) (Hall et al., 2001, pp.25)

La ciclo-oxigenasa (COX-1) es una enzima constitutiva localizada en los tejidos, contribuye a que las prostaglandinas y tromboxanos controlen las funciones fisiológicas como la protección gástrica, agregación plaquetaria, función renal y la homeostasis vascular; mientras que la ciclo-oxigenasas 2 (COX-2) es una enzima inducible de ciertas células en situaciones patológicas a través de citoquinas y mediadores de la inflamación. (Gómez et al., 2008, pp.469) (Hall et al., 2001, pp.26)

1.2.1.3. *Eficacia*

Analgésica/Antiinflamatoria: Los antiinflamatorios no esteroideos son la primera elección entre los analgésicos disminuyendo así el uso de los opiáceos y sus efectos secundarios; a dosis equivalentes la eficacia de estos medicamentos es semejante sin embargo la respuesta individual puede variar.

Antiagregación plaquetaria: Se encuentra mediada por la COX-1, disminuye el riesgo de eventos cardiovasculares trombóticos y es inhibida de manera irreversible por la aspirina en bajas dosis.

Prevención del cáncer de colon: La aspirina disminuye el riesgo de cáncer de colon en un 40% a 50% y la aparición de adenoma de colon en un 30% a 50%, a pesar de ello debido a los posibles efectos secundarios gastrointestinales y cardiovasculares no se recomienda el uso de los AINEs o aspirina para la prevención del cáncer de colon. (Gómez et al., 2008, pp.471)

1.2.2. *Diclofenaco*

Antiinflamatorio no esteroideo que se emplea en la medicina para tratar el dolor, la fiebre y la inflamación en mayores de 14 años, además se ha demostrado que en pacientes con artritis idiopática juvenil ayuda a reducir el número de articulaciones dolorosas. (IQB, 2014)(Pediámecum, 2016, pp.1)

1.2.2.1. *Farmacocinética*

Tras una dosis oral el diclofenaco se absorbe en un 100% pero debido al metabolismo del primer paso únicamente el 50% de la dosis es absorbido a nivel sistémico. Los niveles máximos del medicamento en el plasma ocurren a las 2 horas posteriores a su administración con un porcentaje de unión a las proteínas del 90, presenta una farmacocinética lineal es decir que las concentraciones plasmáticas son proporcionales a las dosis.

Su volumen de distribución es de 1,3L/Kg y su semivida plasmática es de 1,5 horas. Se elimina por vía renal y mediante la bilis. (IQB, 2014)(Muriel et al., 2009, pp.24-25)

1.2.2.2. *Posología*

Si se utiliza una dosis eficaz y baja en un período de tratamiento corto para controlar los síntomas se pueden disminuir la aparición de reacciones adversas.

La dosis oral va de 100 a 200mg diarios.

- ✓ **Adultos:** Se recomienda administrar 75-100mg al día en dos o tres tomas, la dosis máxima inicial es de 100-150mg, en caso de dismenorrea primaria la dosis diaria es de 50-200mg.
- ✓ **Ancianos:** 50mg de comprimidos entéricos diarios.
- ✓ **Niños:** No se ha comprobado la seguridad y eficacia del diclofenaco en niños por lo que no se recomienda su uso. (Facmed, 2007)(IQB, 2014)

1.2.2.3. *Efectos adversos*

En ocasiones se puede presentar náuseas, vómitos, diarreas, dolor de estómago que desaparecen a medida que transcurre el tiempo, casi nunca aparecen exantemas, edemas o personas alérgicas a la aspirina.

En caso de intoxicación se presenta irritabilidad, cefalea, vértigos, ataxias, convulsiones, agitación motora, náuseas, vómitos, diarrea e ictericia, en cuyo caso se debe realizar un lavado gástrico, prevenir las convulsiones a través del diazepam o fenobarbital y disminuir los niveles del medicamento en el plasma mediante diálisis.

Además se debe tener precaución con el medicamento pues puede alterar la coagulación, no se recomienda en embarazadas ya que no se han descartado efectos teratógenos. (Muriel et al., 2009, pp.22)

1.3. **Biodiversidad en el Ecuador**

El Ecuador se encuentra ubicado al noroeste de América Latina sobre la línea ecuatorial, en una posición tropical que le otorga un clima similar en el transcurso del año lo cual le convierte en un país muy biodiverso pues cuenta con una variedad de páramos, bosques, manglares, nevados, animales, etc. a pesar de su tamaño pequeño por lo cual se lo ha denominado como uno de los países megadiversos. (Mena, 2010, pp.19-20)(MAE, 2010)



Figura 4-1: Mapa del Ecuador con sus regiones naturales
Fuente: (Tapia et al, 2008)

1.3.1. *Importancia*

Se define como biodiversidad a la variedad de especies de plantas, animales, hongos y microorganismos que viven en una zona específica, además incluye la variación genética en una población de una misma especie, así como también los procesos ecológicos y evolutivos a nivel de genes, especies, ecosistemas y paisajes.

La biodiversidad con la que cuenta el Ecuador le permite cubrir la mayoría de las necesidades de la población como es alimentación, bienes para la construcción, artesanías y en especial medicinas. (Bravo, 2014, pp.10)

1.3.2. *Perspectiva*

Con el paso de los años aumenta el número de personas que habitan el planeta tierra, debido a esto cada día se consume y se dañan recursos naturales. Para que una población se desarrolle en todos los campos posibles va a depender de este obligatoriamente.

El daño que se realiza directa o indirectamente hace que la vida en la tierra se vuelva complicada ya que existen recursos que no son recuperables y el proceso de reparación de áreas naturales o a su vez de cuidado y reproducción sea bajo a comparación con el consumo y daño que se realiza.

1.3.3. Objetivos del buen vivir

El Ecuador es un país con gran cantidad de recursos naturales debido a que se encuentra en la mitad del mundo, la biodiversidad que contiene es muy variada tanto en flora como en fauna.

El gobierno actual ha creado un plan de mejora en el cual intervienen directamente los objetivos del buen vivir. El Objetivo 7 es el que se encarga directamente de promover el cuidado de la naturaleza garantizando los derechos y la sostenibilidad ambiental, territorial y global de nuestro país. Existen otros objetivos que actúan simultáneamente con este, ya que viene a ser el resultado de un compendio de ideas que buscan mejorar el estilo de vida para que el desarrollo de nuestra población sea amigable con el medio ambiente y no genere daño. (Plan Nacional del Buen Vivir, 2017)

1.4. Fitoterapia

A medida que el ser humano va creciendo también va creando y descubriendo nuevas disciplinas y áreas de estudio, pero al hacer esto se ha ido olvidando de aquellas que por muchos años nos han acompañado con conocimientos no comprobados científicamente en su totalidad pero que sí ha permitido crear una brecha de interés poblacional.

La fitoterapia se presenta como una ciencia que permite conocer la aplicabilidad de las plantas en el área de la salud, si bien es cierto esta definición también es conocida como medicina tradicional, pero que al final lo que se busca es preservar vivo los conocimientos ancestrales. Se vuelve necesario una colaboración entre ciencias patrimoniales y actuales ya que solo así se piensa que en un futuro el estilo de vida de las personas sanas y enfermas mejorara. (Ara, 2003, pp. 17-18-19) (Botanical, 2017)

Por ejemplo *Eupatorium glutinosum* también llamado matico se presenta como una especie vegetal científicamente estudiada, sus efectos terapéuticos se han hecho muy conocidos alrededor de toda Latinoamérica. (Acosta, 1992, pp. 80) (White, 1989)

En Ecuador es utilizado tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades de vías aéreas, en la limpieza de laceraciones, como diurético, anti ulceroso, cicatrizante, antiinflamatorio entre otros. La actividad antiinflamatoria fue comprobada en estudios in vivo en donde un extracto alcohólico presenta el 62,5% en comparación con un medicamento comercial como es la Fenilbutazona misma que presentaba un porcentaje del 62,96, el método utilizado fue inducción de edema en ratas. (Moya, 2013, pp. 10) (Cruz, 2009) (Duke et al., 2009)

1.4.1. *Fitomedicamentos*

Actualmente la fitoterapia ha ganado un poco más de interés ya que ahora se crean productos farmacéuticos en base a principios activos propios de las plantas a los que llamamos Fitomedicamentos. Pero aun no es posible demostrar la actividad de una planta específica en su totalidad ya que existe una gran cantidad de metabolitos secundarios que al ingresar o tomar contacto con el organismo genere efecto terapéutico por interacción. Por esta razón muchas industrias solo crean medicamentos con aquellos principios capaces de ser sintetizables. (Ara, 1997, pp. 16-17)

1.5. *Kalanchoe*

El género *Kalanchoe* está constituido por alrededor de 125 especies, algunas son utilizadas con fines medicinales pero la mayoría son manejadas de forma ornamental. Son ampliamente difundidas a nivel mundial y gracias al conocimiento ancestral son aplicadas en el combate de lesiones o dolencias; pueden ser ingeridas a través de infusiones o también directamente colocadas en las zonas de interés. (Guillot et al., 2009, pp. 62)(Mejía, 2015) (Pérez, 2015, pp. 2) (Villamizar, et al., 2014)

1.5.1. *Kalanchoe pinnata*



Figura 5-1: Floración de *Kalanchoe pinnata* jardín botánico puerto cruz-tenerife

Fuente: (Jorobado, 2008, pp.9)

Kalanchoe pinnata (Lam.) Persoon también conocida como *Bryophyllum pinnatum* o comúnmente llamada hoja del aire es una planta popular en medicina tradicional que se reproduce con gran facilidad. Se ha visto que el jugo de las hojas tiene efectos positivos sobre la salud de las personas. (Villamizar et al., 2014, pp. 1)

1.5.1.1. Taxonomía

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Kalanchoe pinnata*

Reino	<i>Plantae</i>
Clase	<i>Equisetopsida C.</i>
Familia	<i>Crassulaceae.</i>
Género	<i>Kalanchoe Adans.</i>
Especie	<i>Kalanchoe pinnata (Lam.) Persoon</i>

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

1.5.1.2. Descripción botánica

Kalanchoe pinnata se presente como una especie vegetal en forma de arbusto, su tamaño oscila de entre 30cm a 1m de altura. Tanto sus hojas como su tallo son consideradas suculentas debido a la capacidad de almacenamiento de agua que tienen. (Pérez, 2015, pp. 2)

Las flores se presentan de varios colores algunas pueden ser verdosas, amarillentas o rojizas. Los frutos son alargados y pequeños. En cuanto a sus hojas son pequeñas gruesas con bordes sesgados, de color variable esto en dependencia de la época o tiempo de maduración de la planta. (Villamizar et al., 2014, pp. 2)

Entre los nombres botánicos con los que se puede reconocer a esta especie según ICBN son: *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. Sin: *Cotyledon pinnata* Lam., *Bryophyllum calycinum* Salisb, *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz, *Crassula pinnata*. (Vibrans et al., 2009) (Villamizar et al., 2014, pp. 2)

1.5.1.3. Distribución geográfica

Kalanchoe pinnata aparece inicialmente en el continente africano específicamente en la isla de Madagascar, debido a su gran capacidad de ambientación y reproducción se fue propagando por todo el mundo. En la actualidad se encuentra presente en los tres continentes africano, asiático y americano. (Villamizar et al., 2014, pp. 4)

En Ecuador *Kalanchoe pinnata* se ha naturalizado apropiadamente, es considerada una de las especies más propagadoras del país. Se la encuentra en todas las épocas del año y crece con gran facilidad en las cuatro regiones.

1.5.1.4. *Composición química*

Kalanchoe pinnata dentro de su composición química presenta una gran gama de metabolitos secundarios entre los cuales encontramos flavonoides, fenoles, alcaloides, terpenos, bufadienolidos, lípidos, glucósidos, esteroides, ácidos grasos, minerales, etc. (Mejía ,2015) (Villamizar et al., 2014, pp. 4)

Sus hojas son la parte más analizada a nivel científico en su interior encontramos flavonoides como rutina, quercetina, luteolina, kaempferol entre otros. En cuanto a compuestos terpenicos en bibliografía aparecen la α y β –amirina, glutinol, β - sitosterol, bufadienolidos, campesterol, estigmaesterol, etc. (Mejía ,2015) (Villamizar et al., 2014, pp. 4)

- ✓ **Quercetina:** Es un buen antioxidante y uno de los flavonoides más conocidos a nivel terapéutico. Actúa en la inflamación inhibido las enzimas productoras de citoquinas inflamatorias como la ciclooxigenasa o la lipoxigenasa. Además, inhibe la liberación de histamina por los mastocitos y los basófilos.
- ✓ **Rutina:** Es un Flavonoide inhibidor del metabolismo del ácido araquidónico y un buen antioxidante.
- ✓ **α y β –amirina:** Son triterpenos que contienen el ciclopentano-perhidrofenantreno en su interior, actúan inhibiendo las citosinas inflamatorias de la COX-2.

1.5.1.5. *Usos Tradicionales*

Tradicionalmente, el zumo de las hojas es usado para el tratamiento de afecciones menores como tos, heridas, golpes, quemaduras, dolores de cabeza, fiebre, picaduras de insectos es un buen diurético, ayuda en enfermedades respiratorias pero también es conocido como un buen antiinflamatorio y cicatrizante. La forma de administración se lo realiza en te, ungüentos, jarabes, infusiones o a su vez directamente las hojas. (BDMTM, 2009)

En Ecuador los indígenas Sionas que viven a las orillas del rio putumayo calientan las hojas y las colocan sobre las quemaduras, úlceras, laceraciones o golpes en cambio los nativos que habitan cerca del río Pastaza utilizan una infusión de hoja para huesos rotos y contusiones internas, otras tribus en el Amazonas mezclan el zumo de la hojas con la leche de las madres lactantes. (Villamizar et al., 2014, pp. 5)

En otras partes de Latinoamérica como Perú, Brasil, México no solo utilizan las hojas sino también la raíz o el tallo a más de esto ya no solo la combinan con agua sino que también crean elixires. (Villamizar et al., 2014, pp. 5)

1.5.1.6. *Actividad farmacológica*

Numerosos laboratorios en todo el mundo se han interesado por estudiar los efectos de esta planta ya que según conocimientos ancestrales es buena para casi todas las dolencias de las cuales solo algunas ya han sido comprobadas científicamente.

✓ **Actividad antiinflamatoria y cicatrizante**

El extracto de las hojas de *Kalanchoe pinnata* al tener gran cantidad de flavonoides y terpenos actúan sobre las etapas de la inflamación, disminuyen el rubor y la hinchazón.

En cuanto a su poder cicatrizante la acción es causada gracias a la presencia de taninos que actúan acelerando la reparación celular. (Joseph et al, 2011)(Ojewole, 2005, pp. 16-17-18)

✓ **Investigaciones previas**

La Dra. Amalia et al., al realizar un estudio *in vivo* logro comprobar que la fracción de sólidos totales en un porcentaje de 4,5 y aplicado en una dosis de 100mg/Kg presenta efecto antiinflamatorio. (Pattewar, 2012, pp. 998)

Al aislar compuesto específicos de *Kalanchoe pinnata* se puede potenciar el efecto, este es el caso de la 2-(3,4-dihidroxifenil)-3, 5,7-trihidroxi-4h H fenilcromen-4-ona un flavonoide extraída del tallo que a la dosis de 400mg/kg genera efecto. (Chaturvedi, 2012)

Uno de los flavonoides con mayor actividad antiinflamatoria es la quercetina la cual al ser aislada y analizada mediante estudios *in vitro* permite identificar una nueva actividad inmunomoduladora que ayuda en la recuperación de la inflamación de vías áreas.(Cruz, 2011, pp. 118-119-120)

El extracto metanólico de *Kalanchoe pinnata* presenta efecto en dosis de 100 y de 300mg/kg siendo su porcentaje de inhibición de 53,65 y 87,80 respectivamente.(Siddhartha, 1990, pp. 6-7)

Mientras tanto Azafal et al, (2012 pp. 857) aísla esteroides capaces de generar actividad antiinflamatoria obteniendo un porcentaje de inhibición de edema de un 87,29% y 84,45% todo esto en comparación con el Diclofenaco.

✓ **Actividad Anticancerosa**

Según Supratman, et al. (2001) La presencia del 3,5-ortoacetato y del bersaldegenin-1 en las hojas de *Kalanchoe pinnata* generan alta expectativa para el combate contra la células cancerosas. Así también la briofilina-A y la briofilina-B aislados arrojan resultados prometedores para el combate de esta enfermedad. (Villamizar et al., 2014, pp. 20)

✓ **Actividad antialérgica**

Mediante estudio in vivo se comprobó que el extracto de las hojas actúan positivamente en procesos anafilácticos así también generan un bloqueo en los receptores de histamina. (Villamizar et al., 2014, pp. 20)

✓ **Actividad antibacteriana y antimicrobiana**

Según análisis in vitro el extracto de *Kalanchoe pinnata* actúa significativamente sobre *S.aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas* y en otras de origen Gram+. En un estudio Villavamizar et al (2014, pp. 20) indica que el extracto genera actividad a la concentración de 4mg/mL. (Pattewar, 2012, pp. 997)

Investigaciones vitro e in vivo han permitido garantizar el efecto farmacológico de *Kalanchoe pinnata* no solo de los mencionados anteriormente sino también sus diferentes funciones como analgésico, antitumoral, antitusiva, antiasmática, antihipertensivo gastroprotector, antiviral, antifúngico, antihistamínico, antileishmanico, reductor de glucosa, etc. Hasta ahora no existe estudios que comprueben que *Kalanchoe pinnata* sea toxico. (Pattewar, 2012)

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Lugar de investigación

La presente investigación se llevó a cabo en:

- ✓ Laboratorio de Productos Naturales de la ESPOCH
- ✓ Laboratorio de Fitoquímica de la ESPOCH
- ✓ Bioterio de la ESPOCH

2.2. Recolección del material vegetal

Se utilizó las hojas frescas de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) como materia prima. Fueron recolectadas en el mes de Mayo del 2016, Chimborazo, Cantón Riobamba, Parroquia Yaruquíes.

2.3. Reactivos Biológicos

Para el estudio de la actividad antiinflamatoria se ocupó el total de 24 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.3.1. Descripción

- ✓ Peso Corporal: 200-250g
- ✓ Edad: 92 días de nacidas
- ✓ Sexo: Femenino

2.4. Equipos y Reactivos

2.4.1. Equipos

- ✓ Balanza analítica Radwag S 220.R2
- ✓ Molino Arthur H. Thomas
- ✓ Estufa RE 115

- ✓ Mufla SNOL 8,2
- ✓ Desecador
- ✓ Rotavapor BUCHI CH-9230 FLAWIL-SCHWEIZ
- ✓ Bomba de vacío
- ✓ Sonicador Cole-Parmer
- ✓ Refractómetro de Abbé
- ✓ pH-metro (HANNA INSTRUMENT)
- ✓ Espectrofotómetro Cole-Parmer
- ✓ Vórtex
- ✓ Centrífuga Clay Adams
- ✓ Cámara UV
- ✓ Cámara fotográfica (Samsung)
- ✓ Computadora HP
- ✓ Congelador

2.4.2. Reactivos

- | | |
|---------------------------|---------------------------------------|
| ✓ Agua destilada | ✓ Reactivo de Fehling |
| ✓ Alcohol 96% | ✓ Sílica gel 60F254 (Merck) |
| ✓ Alcohol antiséptico | ✓ Metanol |
| ✓ Gel antiséptico | ✓ Acetato de etilo |
| ✓ Éter dietílico | ✓ Formol al 40% |
| ✓ Ácido acético | ✓ Acetato de etilo |
| ✓ Reactivo de Dragendorff | ✓ Ácido acético glacial |
| ✓ Reactivo de Wagner | ✓ Cloruro de Aluminio |
| ✓ Cloroformo | ✓ Polietilenglicol |
| ✓ Ácido sulfúrico | ✓ Soluciones de ácido gálico |
| ✓ Ácido clorhídrico | ✓ Nitrito de Sodio 5% |
| ✓ Hidróxido de sodio | ✓ Tricloruro de aluminio 10% |
| ✓ Hidróxido de potasio | ✓ Carbonato de sodio al 20% |
| ✓ Amonio 5% agua | ✓ Reactivo de Folin-Ciocalteu 20% |
| ✓ Reactivo de Baljet | ✓ Solución de DPPH* (60 uM) |
| ✓ Reactivo de Sudan III | ✓ Solución de carragenina al 1% |
| ✓ Cloruro férrico | ✓ Solución de Diclofenaco Sódico |
| ✓ Cloruro de sodio | ✓ Solución de Carboximetilcelulosa al |
| ✓ Magnesio metálico | 10% |
| ✓ Alcohol amílico | |

2.5 Técnicas y Métodos

2.5.1 *Recolección de la materia vegetal*

La recolección de las hojas de *Kalanchoe pinnata* se realizó en la parroquia Yaruquíes, al occidente de la ciudad de Riobamba (Cantón), a los márgenes del río Chibunga en la provincia de Chimborazo, verificándose específicamente las coordenadas geográficas (Latitud: 1°41'12"S) y (Longitud: 78°39'17"W).

2.5.1.1 *Limpieza y Desinfección de la materia vegetal*

La época del año en la que se recolectó el material vegetal fue en verano, en clima templado y con una temperatura promedio de 14 °C. Las hojas después de su recolección fueron sometidas al proceso de limpieza y desinfección de la siguiente manera:

- ✓ Se seleccionó hojas en buenas condiciones
- ✓ Se eliminaron las partes áreas deterioradas.
- ✓ Las hojas de la materia vegetal fueron sometidas a la limpieza y eliminación de impurezas.
- ✓ Se procedió al secado del material vegetal con una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, en un lugar cerrado con ausencia de luz.
- ✓ Posteriormente se le introdujo en una estufa con flujo de aire durante 3 días.
- ✓ Se pulverizó y se almacenó en bolsas plásticas en condiciones adecuadas, en ausencia de luz y humedad.

2.6 Control de Calidad de la materia prima

2.6.1 *Determinación de cenizas totales*

En el contenido de cenizas totales el agua y sustancias volátiles son evaporadas, mientras que las sustancias orgánicas son incineradas. El análisis se lo realizó siguiendo las Normas Ramales para Drogas Crudas, Extractos y Tinturas (1992, pp.32).

2.6.2 *Determinación de cenizas solubles en agua*

Dentro de las Normas Ramales para Drogas Crudas, Extractos y Tinturas, de 1992 , pp. 33 se presentan todos los pasos y parámetros necesarios para el análisis, con el cual se busca representar la cantidad de materia insoluble en agua.

2.6.3 *Determinación de cenizas solubles en ácido*

Representa la cantidad de minerales insolubles en ácido, la misma que no debe ser mayor al 1%. El método utilizado se encuentra descrito en las Normas Ramales para Drogas Crudas, Extractos y Tinturas (1992, pp. 33)

2.6.4 *Determinación de la Humedad*

Según las Farmacopeas la humedad de una droga debe mantenerse entres 8-14%, para evitar la propagación de microorganismo así como el deterioro temprano por exceso de agua. Las Normas Ramales para Drogas Crudas, Extractos y Tinturas, de 1992 fueron la base para determinar este parámetro.

2.7 Tamizaje Fitoquímico

Fundamento

Permite la identificación cualitativa de compuestos secundarios. El proceso se lo realizó en base a las Normas Ramales de Drogas Crudas, Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312 MINSAP 1992

Extracto Etéreo

Se pesó 20 g de muestra pulverizada con 60 mL de éter o hasta recubrimiento, todo esto dentro de un frasco ámbar. Se dejó macerar por 48h a temperatura, luz y agitación adecuada. Se separó las dos fases por un lado la fase etérea y por otro el residuo sólido, el mismo que deberá ser secado y pesado para luego ser utilizado como muestra en la preparación de los extractos tanto Etanólico como acuoso. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992, pp. 38-39)

Extracto Etanólico:

Una vez seco y pesado, el residuo se colocó dentro de un frasco ámbar con el triple de su peso en volumen de etanol. El macerado fue sometido a las mismas condiciones del proceso anterior. Se separa las dos fases por un lado la fase alcohólica y por otro el residuo sólido.

Extracto Acuoso

Se sigue el mismo proceso descrito anteriormente, pero en este apartado el solvente es el Agua. Se separaron las dos fases por un lado la fase acuosa y por otro el residuo sólido.

Tabla 1-2: Tamizaje fitoquímico del extracto de *kalanchoe pinnata*

METABOLITOS	ENSAYO
Aceites y grasas	Sudan
Alcaloides	Dragendorff
	Mayer
	Wagner
Lactonas y Cumarinas	Baljet
Triterpenos y esterides	Lieberman- Buchard
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Saponinas	Espuma
Azucares Reductores	Felhing
Taninos y Fenoles	Cl ₃ Fe
Flavonoides	Shinoda
Antocianidina	Antocianidinas
Quinonas	Borntrager
Aminoácidos	Nihidrina
Mucilagos	Mucilagos
Sabor	Principios Amargos

Fuente: (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

2.8 Obtención del extracto alcohólico

El extracto alcohólico se obtuvo pesando 137,3g de muestra seca y pulverizada, se sometió a tres maceraciones sucesivas con alcohol al 96% por un tiempo de 48h. Todos los extractos obtenidos se unieron, posteriormente se los concentró en rotavapor, se pesó el extracto obtenido y con eso calculamos el rendimiento obtenido.

2.9 Parámetros de Calidad del Extracto Etanólico

2.9.1 Determinación de pH

Fundamento

Los iones hidrogeno cumplen un papel importante en la determinación del pH, con la ayuda de ésta prueba podemos conocer la acidez o alcalinidad del material vegetal en forma de extracto. (Normas Rmales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992, pp. 38-39)

Procedimiento

En un vaso de precipitación se colocó 10mL de muestra, se hizo contacto directo con el electrodo del pH-metro; una vez realizado esto se observó y anoto los resultados.

2.10 Análisis Cromatográfico

2.10.1 Cromatografía en Capa Fina (TLC)

Fundamento

Permite observar la separación de los compuestos presentes en una mezcla. Para que se dé la separación la substancia problema deberá estar en contacto con una fase móvil y una estacionaria y de igual manera ser afín a la misma. (Normas Rmales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

2.10.1.1 Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Flavonoides

Procedimiento:

El estudio se realizó preparando la fase móvil con acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26), una vez elaborado, se colocó dentro de la cuba y se lo tapo con la finalidad de que todo se sature con el vapor. Con la ayuda de un capilar se tomó una pequeña porción de extracto y se sembró sobre la placa de cromatografía de sílica gel 60 F₂₅₄. Finalmente se colocó la placa sembrada con extracto dentro de la cuba y se lo tapó nuevamente. (Wagner et al, 2003, pp.191)

El sistema de solventes cubrió las $\frac{3}{4}$ partes del total de placa, se retiró de la cuba; posteriormente se dejó secar y se observó en el UV a 365nm. El revelado se lo hizo con cloruro de aluminio y para mayor visibilidad dentro de la cámara UV se potencio con PEG al 1%.

Fórmula:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por los solventes}}$$

2.10.1.2 *Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Terpenos*

- ✓ **Sistema de Solventes:** Hexano: Acetato de etilo (5:1)
- ✓ **Adsorbente:** Sílica gel 60 F₂₅₄
- ✓ **Revelador:** Ácido Sulfúrico + Vainillina (50:50)
- ✓ **Fórmula:** Se utiliza la misma que se muestra en anterior apartado.

2.11 **Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales por Método Colorimétrico**

Fundamento:

El proceso es el mismo tanto para la quercetina que es el estándar como para la muestra. Los resultados que se obtuvieron al realizar los cálculos fueron expresados en miligramos equivalentes de quercetina por mililitro de extracto, todo el proceso se ejecutó libre de luz y a temperatura ambiente. (Asiedu, 2012)

Proceso:

En un tubo de ensayo se colocó 1mL de muestra o de estándar con 4mL de agua destilada y 0,3 mL de NaNO₃ al 5%. Se Dejó pasar 5 minutos y se incorporó 0,3mL de AlCl₃ al 10%, luego de 6 minutos se añadió 2mL de NaOH 1M. Una vez incorporado todo se agitó por 5 minutos en oscuridad y se procedió a leer la absorbancia de las muestras a 510nm.

2.12 **Cuantificación de Fenoles Totales Mediante el Método de Folin-Ciocalteu**

Fundamento:

Se basa en una reacción de óxido reducción en donde el reactivo de Folin-Ciocalteu es el agente oxidante que va a actuar sobre la muestra. El proceso que se describe a continuación está realizado en base al procedimiento publicado por Magalhaes et al, 2006.

Proceso:

El proceso es el mismo tanto para el estándar como para la muestra a analizar, todo el proceso se lo realizó a temperatura ambiente y bajo oscuridad. El resultado es expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por mililitro de extracto.

En un tubo de ensayo se colocó 2mL de muestra o del estándar, después 0,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu al 20%. Luego de 5 minutos se añadió 0,5 mL de Na₂CO₃ al 20% y 5mL de agua

destilada. Se deja reposar el tubo de ensayo con toda mezcla por 1 hora. La lectura de las absorbancias se lo realizó a 765nm y por regresión lineal se calcula la curva de calibración.

2.13 Capacidad Captadora de Radicales Libres por el Método de DPPH*

Fundamento:

Es un método estable que utiliza radicales coloreados en presencia de sustancias antioxidantes. Existen dos métodos: *in vivo* e *in vitro*. (Actividad Antioxidantes, 2012) (Ugartondo, 2009)(Venegas, 2012)

Proceso:

Tanto para el estándar como para la muestra se tomó 100 µL a esto se añadió 3,9mL de DPPH* en metanol, se agitó y se dejó reposar por 60 minutos. En el UV se midió la absorbancia de las muestras o estándares a 515nm.

Los resultados se expresaron como el porcentaje de actividad captadora de radicales libres capaz de disminuir la concentración de DPPH* en un 50%.

Fórmula:

$$I\% = \frac{\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. control}}$$

Donde:

I% = porcentaje de inhibición

Abs control = absorbancia de la reacción control

Abs muestra = absorbancia de extracto a ensayar

2.14 Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata*.

Antes de comenzar el proceso de experimentación con las ratas es importante crear un periodo de ambientación que permita obtener una población muestral con características similares y minimizando la posibilidad de factores que puedan influir de manera negativa sobre nuestro estudio.

Etapas de Ambientación

Los animales de experimentación utilizados para este estudio fueron ratas albinas, se las distribuyó en grupos de 3, para las 8 jaulas se mantuvo las mismas condiciones tanto alimenticias como ambientales.

- ✓ Agua y comida: 10 pepas de balanceado y 500ml de agua por día
- ✓ Ciclo de luz-oscuridad: 12/12h

- ✓ Temperatura relativa: 23°C ± 2
- ✓ Humedad relativa: 45±5 %
- ✓ Cama con tamo estéril cada 48h

2.14.1 *Método de inducción de edema plantar con Carragenina*

Fundamento:

Se basa en el método propuesto por Winter, donde una solución generadora de inflamación es administrada en la pata posterior del animal de experimentación rata albina, el cual permitirá evaluar la actividad antiinflamatoria de las sustancias o extractos. (Winter et al, 1962)

Procedimiento:

Se preparó carragenina al 1% luego se precargó 0,1mL de la misma en una jeringa de 1mL. Una vez inmovilizado el animal de experimentación y desinfectada la zona de punción, se procedió a aplicar la carragenina por vía subcutánea específicamente en la aponeurosis plantar de la pata derecha de la rata.

Para los cálculos se procedió a evaluar el nivel de inflamación desde el tiempo cero hasta la séptima hora.

Cálculo:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_{tx} - V_{to}}{V_{to}} * 100$$

Donde:

V_{tx} = Volumen de la pata inflamada a un tiempo X

V_{to} = Volumen normal de la pata

2.14.2 *Tratamiento con extracto Etanólico de Kalanchoe pinnata y Controles.*

Para evaluar el potencial farmacológico del extracto se elaboraron dosis de 25, 100 y 300 mg/Kg. La forma farmacéutica utilizada para los controles y los tratamientos es una suspensión hecha a base de CMC al 10% que será administrada por vía oral a través de una cánula metálica todo esto una hora después de la carragenina. El volumen de suspensión administrado es de un mililitro.

Se ocuparon tres controles: blanco CMC al 10%, matico 100mg/Kg y diclofenaco sódico 100mg/Kg. Al igual que con el método de inducción de edema plantar para los cálculos se evaluó el área de las patas inflamadas desde el tiempo 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 hasta la hora 7, con la ayuda de una cámara fotográfica, el programa *ImageJ* y el IBM SPSS statistics v.23 se obtuvo los resultados.

2.14.3 Método de medición del área de las patas inflamadas

La medición del área de las patas inflamadas se la realizó con la ayuda del programa *ImageJ*, el mismo que permite obtener valores cuantitativos ya que analiza y procesa imágenes en cualquier tipo de formato.

2.14.4 Modelo Experimental

En la siguiente tabla se sintetiza la metodología utilizada para la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* así como la utilización de los respectivos controles tanto positivos como negativos.

Tabla 2-2: Modelo experimental

TRATAMIENTO	REPETICIONES			
B	R1	R2	R3	R4
CN	R1	R2	R3	R4
CPM	R1	R2	R3	R4
CPD	R1	R2	R3	R4
DE₂₅	R1	R2	R3	R4
DE₁₀₀	R1	R2	R3	R4
DE₃₀₀	R1	R2	R3	R4

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

Donde:

B: Blanco suspensión de carboximetilcelulosa administrado por vía oral 1mL.

CN: La carragenina al 1% es el control negativo 0,1mL por vía intraperitoneal.

CPM: Control positivo extracto de matico 100mg/Kg, 1mL vía oral más 0,1mL de carragenina.

CPD: Control positivo Diclofenaco Sódico 100mg/Kg, 1mL Vía Oral más 0,1mL de carragenina.

DE₂₅: Dosis Experimental de 25mg/Kg de extracto más 0,1mL de carragenina.

DE₁₀₀: Dosis Experimental de 100mg/Kg de extracto más 0,1mL de carragenina.

DE₃₀₀: Dosis Experimental de 300mg/Kg de extracto más 0,1mL de carragenina.

Se utilizaron en total 24 animales de experimentación de los cuales diariamente se ocupaban 6 por cuatro días seguidos. La cantidad fue definida por el principio de las 3R (Reducción, Refinamiento y Reemplazo).

TOTAL: $6 \times 4 = 24$

Todos los análisis mencionados anteriormente fueron realizados por triplicado esto permitió que exista una menor probabilidad de error en cuanto a valores estadísticos, de igual manera para el análisis de la actividad antiinflamatoria se realizó una sustentación del extracto obtenido de *Kalanchoe pinnata* con dos estándares antiinflamatorios de acción comprobada uno comercial en este caso el diclofenaco sódico y otro fitoquímico el matico.

2.14.5 *Análisis Estadístico*

El modelo experimental empleado permitió la realización de cuatro repeticiones y de cada una se obtuvo las áreas. Estos datos fueron analizados a través de un test estadístico (ANOVA de un factor) que permite identificar si el tratamiento planteado influye de manera significativa en los animales de experimentación.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Análisis de la especie vegetal

3.1.1. Pruebas de control de calidad de la especie vegetal

Para el control de calidad se utilizaron las hojas tanto de *Kalanchoe pinnata* (Lam.), como de *Eupatorium glutinosum*. Las dos especies fueron adquiridas en la provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba.

3.1.2. Comprobación taxonómica e identificación botánica

Su comprobación e identificación se la realizó con la ayuda del Ing. Jorge Caranqui técnico encargado del Herbario de la ESPOCH. Confirmando así que *Kalanchoe pinnata* (Lam.) es una planta introducida en el país perteneciente a la familia de las Crasuláceas, en cuanto al matico su nombre científico es *Eupatorium glutinosum* y pertenece a la familia Lamiaceae y es propia del Ecuador.

3.2. Análisis físico químico cuantitativo

El análisis físico químico permite identificar parámetros propios de la especie los cuales establecen la calidad del mismo, al momento de ser utilizado.

Tabla 1-3: Resultados del control de calidad de la droga cruda

Parámetros	Especificaciones	<i>Kalanchoe pinnata</i>
Humedad	14%	10.676%
cenizas totales	5%	2.730%
cenizas solubles en agua	2%	1.963%
cenizas solubles en ácido	1%	0.659%

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

En la Tabla No.1-3 se presentan todos los parámetros analizados con sus respectivos valores de referencia, en el mismo se puede apreciar que el porcentaje de humedad es de 10.676%, valor que se encuentra dentro de los límites establecidos por las especificaciones.

Otro análisis realizado fue el de cenizas totales del cual se derivan dos más, cenizas en agua y en ácido para cada uno de estos sus valores fueron 2.730%,1.963%, 0.659% respectivamente. Según bibliografía todos los valores se encuentran de acuerdo a la normativa.

3.3. Determinación de los parámetros físicos y químicos del extracto alcohólico

Todos los parámetros tanto físicos como químicos son propios de cada especie en estudio, aun cuando la planta sea la misma estos parámetros pueden diferir. Existen varios factores que van a influir entre ellos tenemos el país, región, tiempo de recolección, condiciones ambientales, etc.

Tabla 2-3: Parámetros físicos y químicos del extracto de *Kalanchoe pinnata*

PARÁMETROS	<i>Kalanchoe pinnata</i>	Unidades
Rendimiento	17,79	%
pH	2,55	-

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

El rendimiento que el extracto de *Kalanchoe pinnata* presenta es de 17,79% este valor fue obtenido tomando en cuenta la cantidad de muestra seca y triturada que fue sometida a tres maceraciones sucesivas en etanol al 96%, luego se procedió a evaporar el solvente a través de rotavapor, todo esto dando como resultado un extracto blando.

En cuanto a sus características organolépticas el extracto presentó una consistencia líquida homogénea libre de impurezas o materia extraña, de color verde parduzco, no presenta un sabor específico (neutro) y su olor es ligeramente aromático.

El pH del extracto analizado es ácido, teniendo un valor de 2,55, esto podría deberse a la presencia de ácidos orgánicos y de algunos compuestos fenólicos con carácter ácido.

3.4. Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje Fitoquímico es un análisis cualitativo que permite identificar la presencia de los diferentes metabolitos secundarios presentes en un extracto. Se realizó la obtención de tres extracto con diferentes solventes, la finalidad de esto es observar en que medio los metabolitos tienen mejor solubilidad.

Tabla 3-3: Tamizaje fitoquímico del extracto de *Kalanchoe pinnata*

Sudan	Aceites y Grasas	+	NA	NA
Dragendorff	Alcaloides	-	+	+
Mayer	Alcaloides	-	-	-
Wagner	Alcaloides	-	+	-
Baljet	Cumarinas	-	-	NA
Liebermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	+	+	NA
Catequinas	Catequinas	NA	NA	NA
Resinas	Resinas	NA	-	NA
Fehling	Az. Reductores	NA	-	+
Espuma	Saponinas	NA	-	-
Cl₃Fe	Fenoles y Taninos	NA	+	+
Boritrager	Quinonas	NA	-	NA
Shinoda	Flavonoides	NA	+	-
Antocianidina	Flavonoides	NA	+	NA
Ninhidrina	Aminoácidos	NA	-	NA
Mucílagos	Polisacáridos	NA	NA	-
Principios amargos	Principios amargos	NA	NA	+/-

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (NA) No Aplica
 Los compuestos secundarios que se encontraron en el extracto etéreo son: aceites, grasas, triterpenos y esteroides, en cuanto al extracto acuoso luego de su análisis se evidenció la presencia de alcaloides, azúcares reductores, fenoles, taninos y principios amargos. Sin embargo ninguno de estos dos solventes extraen flavonoides y terpenos conjuntamente, el único que lo hace es el alcohol y debido a que estos dos metabolitos son esenciales en la generación del efecto antiinflamatorio el medio más idóneo será el alcohólico.

El extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* muestra la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos y flavonoides, datos que han sido corroborados con bibliografía en donde se comprueba la presencia de varios compuestos entre ellos: esteroides, triterpenos, taninos, flavonoides y cardiotónicos mismos que son los encargados de generar diferentes actividades biológicas entre ellos la antiinflamatoria que es en la que se centra toda esta investigación. (Barajas et al, 2014, pp. 16) (Cabrera et al, 2011, pp. 55)

Tabla 4-3: Tamizaje fitoquímico del extracto de *eupatorium glutinosum*

ENSAYO	TIPO METABOLITO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Sudan	Aceites y Grasas	NA	NA	NA
Dragendorff	Alcaloides	-	NA	+
Mayer	Alcaloides	-	NA	-
Wagner	Alcaloides	-	NA	+
Baljet	Cumarinas	-	-	NA
Liebermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	+	+	NA
Catequinas	Catequinas	NA	+	NA
Resinas	Resinas	NA	+	NA
Fehling	Az. Reductores	NA	-	-
Espuma	Saponinas	NA	-	-
Cl ₃ Fe	Fenoles y Taninos	NA	+	+
Borntrager	Quinonas	NA	NA	NA
Shinoda	Flavonoides	NA	+	-
Antocianidina	Flavonoides	NA	++	NA
Ninhidrina	Aminoácidos	NA	-	NA
Mucílagos	Polisacáridos	NA	NA	-
Principios amargos	Principios amargos	NA	NA	-/+

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (NA) No Aplica De acuerdo a los resultados que se expresan en la Tabla 4-3 los metabolitos secundarios encontrados en el matico fueron: triterpenos, esteroides, catequinas, resinas, fenoles, taninos y flavonoides el cual se encuentra en mayor cantidad que el resto, estos resultados han sido comparados y sustentados con bibliografía en el cual se muestra que si existe mayor cantidad de flavonoides no solo en extractos alcohólicos sino también hidro-alcohólicos. (Arroyo et al, 2012, pp.276) (Núñez, 2016)

3.5. Cromatografía en capa fina (TLC)

3.5.1. Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Flavonoides

Para el caso de *Kalanchoe pinnata* al igual que de *Eupatorium glutinosum* se ocupó la misma fase móvil la cual está constituida de acetato de etilo-ácido fórmico- ácido acético glacial- agua (100:11:11:26), propia para flavonoides. En cuanto a los reveladores se ocupó los mismos que están descritos en apartado 2.9.1.1 de la metodología.

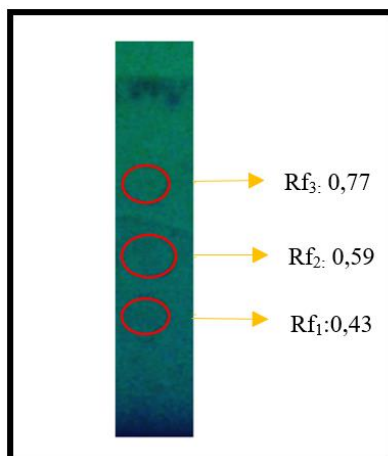


Figura 6-3: Cromatografía en capa fina de *kalanchoe pinnata*
Elaborado por: (Marisela Cucurí, 2017)

Como se muestra en la Figura 6-3, dentro de la cromatografía se encontró tres tipos de flavonoides, demostrándose así su presencia en el extracto de *Kalanchoe pinnata* información que ha sido corroborada con el tamizaje Fitoquímico realizado anteriormente.

La cromatografía como tal presenta tres manchas con Rf de 0,43, 0,59 y 0,77 estos valores al relacionarlos con bibliografía permiten presumir la presencia de rutina, hiperosido y ácido isoclorogénico para cada recorrido respectivamente. (Wagner et al, 2003, pp.192, 193)

En la cromatografía realizada al matico se observa la presencia de tres flavonoides los cuales aparecen en la parte media de la placa, al realizar el cálculo de cada Rf se obtuvieron los siguientes recorridos: 0,63; 0,51; 0,47, estos valores se aproximan mucho a los que presenta Wagner et al, 2003, gracias a esto se podría presumir la existencia de ácido clorogénico (Rf: 0,51) y de un hiperosido (Rf: 0,63) el cual es un derivado de la quercetina.

3.5.2. Análisis Cromatográfico en Capa Fina de Terpenos

Para la cromatografía de terpenos del extracto de *Kalanchoe pinnata* se utilizó una fase móvil de hexano: acetato de etilo en proporción (5:1), la fase estacionaria empleada fue placas de sílica gel, en cuanto al revelador se ocupó: ácido sulfúrico + vainillina (50:50).

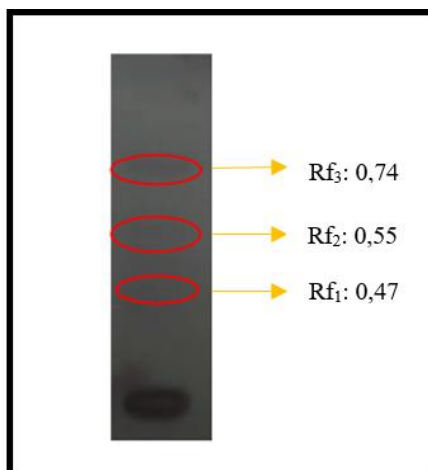


Figura 7-3: Cromatografía en capa fina de *kalanchoe pinnata*
Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

En la figura 7-3 se puede observar la presencia de tres compuestos terpénicos cuyos Rf son de 0,47; 0,55y 0,74 valores que se presumen estarían relacionados con la presencia de esteroides fenólicos de los cuales sobresalen principalmente la α - amirina y β -amirina, información que se encuentra corroborada con el tamizaje Fitoquímico realizado anteriormente y también con los datos reportados por Villamizar et al, 2014.

3.6. Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales por Método Colorimétrico.

La cuantificación de flavonoides, presente en los extractos estudiados partió de la elaboración de una curva de calibración cuya ecuación es $y=,0009x+0,0066$ y su $R^2=0.9991$ para el estándar de quercetina.

El método utilizado fue el espectrofotométrico, para que las muestras entren dentro de la curva estándar, se procedió a realizar diluciones de las mismas dando como resultado una variación en sus concentraciones.

Tabla 5-3: Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales por método colorimétrico

Extractos	Dilución	Concentración ppm	mg equivalentes de quercetina/ml de extracto	Porcentaje
<i>Kalanchoe pinnata</i>	1:2	5000 ppm	1,586 mgEQ/mL	0,159 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1:10	1000 ppm	4.585 mgEQ/mL	0,459 %

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

Como se muestra en la tabla 5-3 el extracto con mayor porcentaje de flavonoides totales es la de *Eupatorium glutinosum* con 0,459%, en el caso de *Kalanchoe pinnata* su porcentaje es más bajo siendo este de 0,159%. Cabe recalcar que el porcentaje de flavonoides sigue siendo alto en el matico aun cuando este se encontró más diluido.

En el año 2014 Gururaja MP y colaboradores realizaron un análisis del extracto alcohólico de *K. pinnata*, en dicho estudio la especie antes mencionada presentaba un porcentaje de flavonoides totales de 0,75, hay que tomar en cuenta que la especie citada en bibliografía no es propia del Ecuador. (Gururaja et al, 2014, pp. 257)

En cuanto a *Eupatorium glutinosum* es necesario mencionar que no existen datos bibliográficos que nos permitan realizar una comparación, debido a que muchos de los que se encuentran realizados y publicados no cumplen con todas las condiciones que se emplearon en este estudio.

3.7. Cuantificación de Fenoles Totales Mediante el Método de Folin-Ciocalteu

La cuantificación de fenoles totales de cada extracto se determinó a través de una curva de calibración creada con el estándar de ácido gálico donde $y=0,0005x+ 0,1925$ y el coeficiente de correlación era de $R^2= 0,982$.

Tabla 6-3: Cuantificación de fenoles totales mediante el método de folin-ciocalteu

Extractos	Concentración ppm	mg equivalentes de ácido gálico/mL de extracto	Porcentaje
<i>Kalanchoe pinnata</i>	909 ppm	57,723 mgEQ/mL	5,772 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1111 ppm	43,663 mgEQ/mL	4,366 %

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

La tabla 6-3 presenta todos los valores obtenidos durante el análisis, se aprecia claramente que el mayor porcentaje de fenoles le pertenece a el extracto de *Kalanchoe pinnata* con un 5,772% y un contenido de 57,723 mgEQ de ácido gálico por cada mL de extracto. El matico presenta un valor menor de 4,366 % y un contenido de 43,663 mgEQ de ácido gálico por cada mL de extracto.

Aun cuando la muestra de *Kalanchoe pinnata* se encuentra más diluida (1:11) que la del matico (1:10) la cantidad en porcentaje sigue siendo alta, entonces se puede decir que existe mayor cantidad de compuesto fenólicos presentes en la muestra, que no necesariamente serán solo flavonoides; sino que más bien serán todos aquellos compuestos que en su interior presenten anillos aromáticos y grupos hidroxilos libres. El matico en cambio presenta mayor cantidad de flavonoides que de otros compuestos fenólicos, datos que han sido comprobados durante el tamizaje, cuantificación de flavonoides y también en bibliografía esto justifica su menor porcentaje en cuanto a la determinación de fenoles totales. (Gururaja et al, 2014, pp. 256) (Núñez, 2016)

Gururaja y colaboradores en el año 2014, indican que el porcentaje de fenoles totales para *K. pinnata* es de 1,17%, como se mencionó anteriormente el entorno en el cual se desarrolla cada especie es diferente y por ende sus propiedades y compuesto se potenciarán o disminuirán. Cabe mencionar que el estudio presentado como bibliografía fue realizado en la India. (Gururaja et al, 2014, pp. 257)

Es importante manifestar que no se realiza una comparación bibliográfica más exhaustiva de *Eupatorium glutinosum* debido que no existen citas bibliográficas acerca de la cuantificación de fenoles totales.

3.8. Capacidad Captadora de Radicales Libres por el Método de DPPH*

El método de DPPH* se basa en la capacidad secuestradora de radicales libres que una muestras biológica puede tener; es necesario crear una curva de calibración de ácido gálico la misma que funcionara como estándar cuya ecuación es $y=0,799e^{-0,024x}$ con un R^2 de 0,9817.

Tabla 7-3: Capacidad captadora de radicales libres por el método de DPPH*

Extractos	Concentración ppm	Concentración inhibitoria media (µg/mL)	Porcentaje de ACRL
<i>Kalanchoe pinnata</i>	1000 ppm	21,319 µg/mL	28,69 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1111 ppm	85,359 µg/mL	114,85 %

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

El extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* mostró actividad antioxidante de 28,69% y de 114,85% para *Eupatorium glutinosum* todo esto se realizó siguiendo el método de DPPH*, el cual luego de haber sido sometido a la lectura de sus absorbancias mostró un cambio de coloración de lila a amarillo parduzco; para el matico mientras que para *K. pinnata* su coloración no varió. La concentración de las dos muestras cambia debido a que cada una fue sometida a dilución para que sus absorbancias pudieran entrar dentro de la curva.

En bibliografía no se encuentra disponible información acerca del extracto alcohólico de *K. pinnata* pero si se encontró un estudio de una especie similar que tiene capacidad antioxidante comprobada, en donde esta presentaba un valor de concentración inhibitoria de 4,20gExt/mmol para *K. daigremontiana* mientras que para *K. pinnata* su valor convertido es de 0.021gExt/mmol, el valor obtenido en este estudio es menor al encontrado debido a que hay una variación de compuestos presentes en los extractos, a mayor cantidad de flavonoides o fenoles mayor capacidad captadora de radicales libres habrá siempre y cuando se tome en cuenta su polaridad o la complejidad con la que estos se encuentre dentro la mezcla. (Puertas et al, 2014)

Cabe mencionar que en el caso de *Eupatorium glutinosum* no se puede realizar una comparación bibliografía de la capacidad captadora de radicales libre ya que no existe evidencia bibliografía.

3.9. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* in vivo.

La evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto de *Kalanchoe pinnata* se efectuó según el modelo experimental descrito en el Cuadro 2-2, los datos fueron recolectados en diferentes tiempos (0, 1, 2, 3, 4, 5,6 y 7 horas) y en cada dosis.

El porcentaje de inflamación se obtuvo por medición de las áreas de las patas, todo esto con la ayuda del programa *ImajenJ* y el software estadístico IBM SPSS Statistics 23.

Tabla 8-3: Resultados de inflamación de los diferentes tratamientos expresados como área de inflamación en cm².

PROMEDIO ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR TRATAMIENTOS						
HORA	BLANCO	Diclofenaco sódico 100 mg/kg	<i>Eupatorium glutinosum</i> 100 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 300 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 100 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 25 mg/kg
Patrón	2,3525 ± 0,044	2,4148 ± 0,062	2,4240 ± 0,132	2.269±0.128	2.291±0.075	2.334±0.184
H0	2,3775 ± 0,041	2,4883 ± 0,111	2,4608 ± 0,157	2.306±0.109	2.300±0.089	2.362±0.192
H1	2,4540 ± 0,104	2,5308 ± 0,123	2,5263 ± 0,133	2.370±0.099	2.377±0.085	2.463±0.117
H2	2,5433 ± 0,120	2,6138 ± 0,067	2,6180 ± 0,137	2.528±0.125	2.513±0.089	2.517±0.081
H3	2,5795 ± 0,129	2,6518 ± 0,070	2,6730 ± 0,139	2.613±0.101	2.558±0.090	2.647±0.088
H4	2,6505 ± 0,107	2,6233 ± 0,060	2,6523 ± 0,138	2.611±0.099	2.562±0.102	2.692±0.206

H5	2,6670 ± 0,108	2,5765 ± 0,042	2,6063 ± 0,162	2,491±0.124	2,526±0.114	2,646±0.146
H6	2,6785 ± 0,074	2,5465 ± 0,063	2,5528 ± 0,175	2,429±0.123	2,493±0.108	2,626±0.124
H7	2,7080 ± 0,092	2,4838 ± 0,040	2,5015 ± 0,155	2,349±0.097	2,410±0.045	2,590±0.083

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

Los valores obtenidos del área de la pata inflamada se muestran en la Tabla 8-3. Con la finalidad de obtener datos estadísticamente significativos se procedió a realizar cuatro repeticiones para cada hora y bajo las mismas condiciones; así también se obtuvo la desviación estándar de cada una de las horas.

Con respecto al intervalo de tiempo comprendido entre la inducción del edema y la generación del efecto antiinflamatorio se puede observar que en la hora 2 de la dosis 300 mg/Kg existe una desviación mayor, este caso se repite para la dosis de 100 mg/g en la hora 5 y en la hora 0 para la dosis de 25mg/Kg, por lo tanto existirá una posible diferencia significativa en los tratamientos realizados.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis estadístico se obtuvieron los porcentajes de inflamación de cada una de las patas y en cada hora, para esto se utilizó la fórmula descrita en el numeral 2.10.1 de la metodología.

Tabla 9-3: Resultados de la actividad antiinflamatoria expresada en porcentaje de inflamación

HORA	BLANCO	Diclofenaco sódico 100 mg/kg	<i>Eupatorium glutinsum</i> 100 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 300 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 100 mg/kg	<i>Kalanchoe pinnata</i> 25 mg/kg
H0	1.063	3.003	1.516	1.642	1.495	1.080
H1	5.377	7.743	5.734	6.093	6.340	6.472
H2	13.486	15.873	13.738	16.681	16.019	14.163
H3	23.135	25.557	24.010	30.586	28.634	26.284
H4	35.802	34.076	33.426	42.442	40.474	41.153
H5	49.171	40.684	40.945	49.934	50.742	54.279
H6	63.029	46.067	46.256	56.534	59.548	66.635
H7	78.140	48.887	49.453	60.048	64.721	77,439

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

Una vez obtenidos los promedios de cada uno de los grupos en sus respectivas horas, se procedió a realizar un análisis de los tratamientos con sus grupos controles, para esto se utilizó el test ANOVA de un factor.

Como se muestra en la Tabla 10-3 al realizar el ANOVA de un factor en los tiempos comprendidos entre la hora 0 y la hora 7, se obtuvo un valor de p menor a 0,005 solo en la última hora, al obtener este resultado es factible mencionar la existencia de diferencia significativa en este bloque ($0,001 \leq 0,005$). Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una relación entre la eficacia de la inflamación y el tiempo ya que son significativamente diferentes.

Tabla 10-3: Anova de un factor en todas las horas

ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	.329	5	.066	7.538	.001
Dentro de grupos	.157	18	.009		
Total	.487	23			

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

En este caso se procedió a realizar un análisis de DMC y TukeyB con la finalidad de determinar la manera en la que influyen estos factores sobre la inflamación. Tanto la tabla completa del ANOVA de un factor como la de DMC se en la sección de anexos (ANEXO X, Y y Z).

Con la ayuda del programa Microsoft Excel 2013 se elaboraron gráficas, que nos permitieron apreciar de mejor manera el comportamiento del extracto en las diferentes horas.

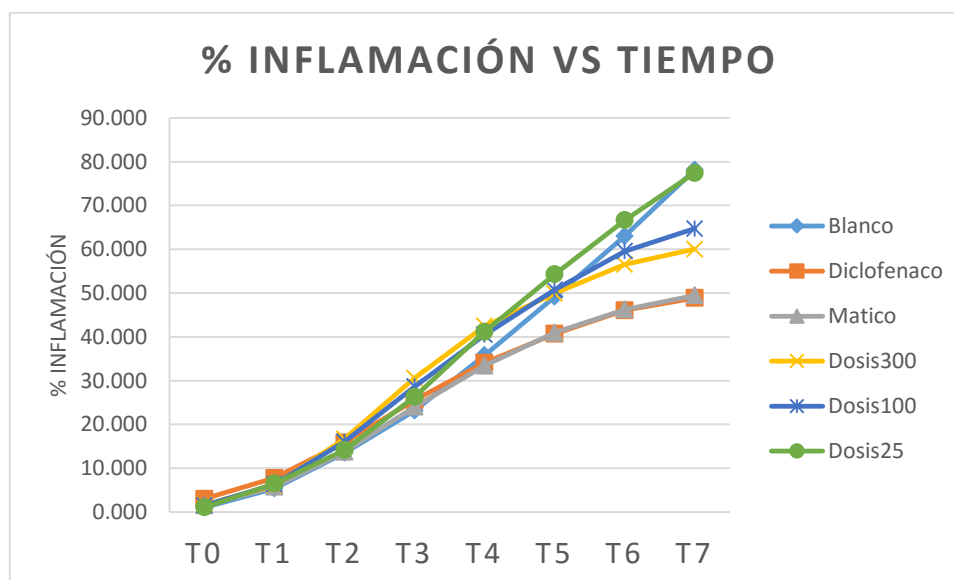


Gráfico 1-3: porcentaje de inflamación del edema inducido con carragenina durante la evaluación de la actividad antiinflamatoria de las dosis de *kalanchoe pinnata* y sus diferentes controles

Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

Como se aprecia en la Grafica 1-3 el control negativo o blanco tiene un comportamiento ascendente durante todo el ensayo, debido a que este no cuenta con ningún tratamiento que le

ayude a disminuir los efectos, por ende su porcentaje máximo de inflamación es del 78,140%. Los grupos tratados con Diclofenaco sódico y matico muestran un comportamiento similar cada uno con un porcentaje de inflamación de 48,887 y 49,456 respectivamente, observándose claramente una disminución del efecto con respecto al blanco, esto se debe a que los dos controles positivos utilizados cuentan con un mecanismo de acción similar, el cual actúa sobre la vía de las ciclooxigenasas, mismas que podría estar relacionada con inhibición de las prostaglandinas. (Enciso, 2011)(Morales et al, 2015, pp. 43,44) (Vademecun, 2014)

El comportamiento de las diferentes dosis del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* no es igual. Los porcentajes de inflamación de las dosis 100 y 300 es menor en comparación con el control negativo, la dosis 25 se proyecta de una forma similar y presenta un valor de 77,439% en porcentaje de inflamación.

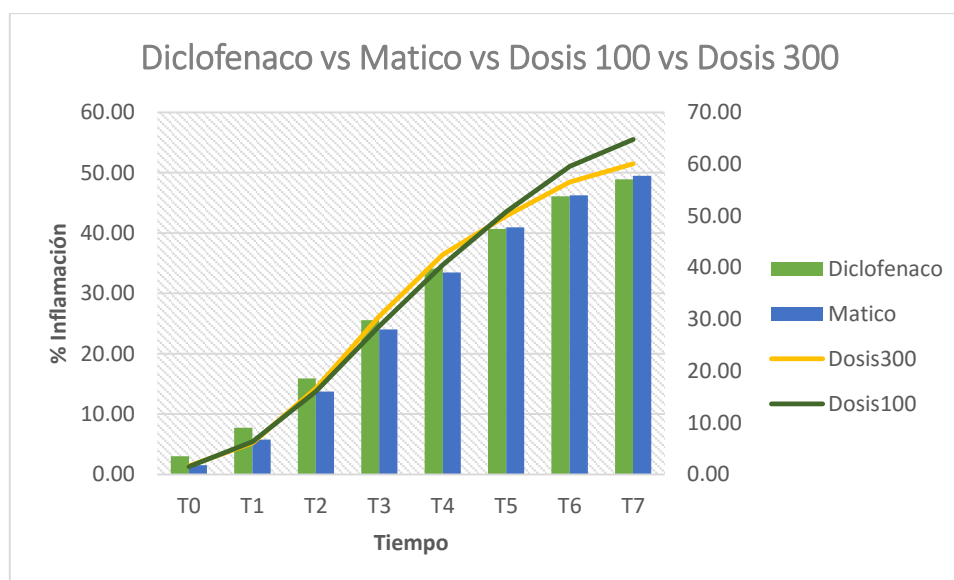


Gráfico 2-3: comparación del porcentaje de inflamación de las dosis 100 y 300 del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* versus los controles positivos matico y diclofenaco
Elaborado por: (Marisela Cucurí, 21017)

En la Grafica 2-3 se muestra el efecto antiinflamatorio del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* en el cual se observó que la dosis de 300 mg/Kg genera mayor actividad con un porcentaje de 60,05% mientras que la dosis de 100 mg/Kg tuvo un 64,72% de inflamación. A un cuando estas fracciones no muestran un porcentaje similar al de los controles (Matico y Diclofenaco), la dosis de 300 es por mucho más cercana, hecho que es evidenciado por la reducción que sufre el volumen de la pata. Su actividad antiinflamatoria se lo atribuye a la cantidad de flavonoides que el extracto presenta entre los más importantes se destaca la quercetina y la rutina los cuales son capaces de modificar la respuesta inflamatoria interviniendo sobre las prostaglandinas y otros mediadores de la inflamación.

Según Donoso et al, en su estudio realizado en el año 2013 en Colombia indica que el extracto de *Kalanchoe pinnata* si presenta actividad antiinflamatoria en una dosis de 300mg/Kg con un porcentaje de inflamación del 57,77% el mismo que se destaca desde la tercera hora hasta la séptima en cambio en esta investigación la dosis 300 se destaca solo en la séptima hora. (Donoso et al, 2013, pp.82, 83)

La actividad antiinflamatoria que la especie naturalizada en nuestro país presenta es menor en comparación con la de otros estudios realizados a nivel mundial, esto se debe a que existen varios factores que juegan un papel importante en la generación del efecto entre ellos tenemos el clima, la altura, la época del año en la que fue recolectada, etc.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) presentó un porcentaje de rendimiento del 17,79% con un pH de 2,55, así también durante su tamizaje Fitoquímico se logró identificar la presencia de Terpenos, y Flavonoides, metabolitos secundarios importantes a los cuales se les atribuye el efecto antiinflamatorio.

La técnica de cromatografía en capa fina (TLC) nos permitió identificar tanto flavonoides como terpenos los cuales posiblemente se encuentren presentes en el extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* (Lam.), siendo la quercetina, ácido isoclorogenico y rutina los flavonoides más importantes, en tanto que para terpenos se logró aislar posibles esteroides fenólicos.

Se realizó la cuantificación de flavonoides, fenoles totales y radicales libres del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) por método espectrofotométrico el cual muestra un contenido de 1,586 mgEQ/mL, 57,723 mgEQ/mL y 21,319 µg/mL para cada uno de los parámetros antes mencionados.

El uso de *Kalanchoe pinnata* como antioxidante no es efectivo, ya que su porcentaje de captación de radicales libres fue del 28,69 % el cual es menor al ser comparado con el valor de 114,85 % obtenido de *Eupatorium glutinosum*.

Se demostró que la mejor dosis administrada para evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* por inducción de edema plantar en ratas por vía oral, es la de 300mg/Kg, ya que genera mejores resultados, dando un porcentaje de inflamación del 60,05%.

Los resultados fueron tratados con el test estadístico ANOVA y por las pruebas DMC y TukeyB, los cuales determinaron que la administración del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata* presentaba efecto antiinflamatorio significativo ($p \leq 0,005$) a la séptima hora con respecto a los grupos controles, también muestra un mejor comportamiento que las otras dosis estudiadas en esta investigación.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio etnobotánico de la especie naturalizada en el Ecuador en diferentes épocas del año, con la finalidad de generar una base de datos propia de tal manera que sirva como fuente bibliográfica para futuras investigaciones.

Al ser una especie con grandes propiedades medicinales como por ejemplo, la actividad antiinflamatoria, es importante realizar un estudio toxicológico del extracto de *Kalanchoe pinnata*.

Realizar análisis de HPLC e IRM, específicos para flavonoides y terpenos que permitan comprobar la presencia de los compuestos encontrados en esta investigación.

Se recomienda evaluar la actividad antiinflamatoria de *Kalanchoe pinnata* (Lam.), utilizando extractos cuyo solvente sea diferente de etanol.

Cambiar la vía de administración del extracto ya que existen varios estudios realizados en otros países que demuestran que una de las mejores vías es la Intraperitoneal (IP), sin embargo la vía tópica también sería una buena propuesta de estudio ya que como se mostró en esta investigación el extracto obtenido tenía un pH ácido y al estar en contacto con la piel puede potenciar sus efectos.

BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA SOLIS, M.** *Plantas Medicinales del Ecuador*. [en línea]. Quito –Ecuador: Abya-Ayala. 1992. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.farmacos.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/S.-Abdo-Cicatrizante-de-combinaci%C3%B3n-de-plantas.pdf>
- ARA, alfredo.** *40 Plantas Medicinales* [en línea]. (3). Madrid-España: EDAF, S.A, 2003. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: https://books.google.es/books?id=b0VyS10biKoC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.-
- ARA, Alfredo.** *100 Plantas Medicinales Escogidas* [en línea]. (4). Madrid-España: EDAF, S.A, 2004. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: https://books.google.es/books?id=QjbRZ9uAwqgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- ARROYO, J; HAÑARI R; et al.** “Efecto antihipertensivo del extracto de ‘matico’ sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones”. *Revista Anales de la Facultad de Medicina de Perú*. [en línea], 2012, (Perú) 73(4), pp. 275-280. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: evistasinvestigacion.unmsm.edu.pe > Inicio > Vol. 73, Núm. 4 (2012) > Arroyo
- ARTHRITIS FOUNDATION:** *Que es la Inflammation* [en línea]. Atlanta: Arthritis Foundation National Office, 2016. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://espanol.arthritis.org/espanol/la-artritis/preguntas-frecuentes/pf-inflamacion/>
- AFZAL, M; GUPTA, G; et al.** . “Potencial antiinflamatorio y analgésico de un nuevo derivado esteroideal de *Bryophyllum Pinnatum*”. *ELSEVIER Fitoterapia*. [en línea], 2012, (India) 83(5), pp. 854-858. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://sci-hub.cc/10.1016/j.fitote.2012.03.013>
- BATLOUNI, Michel** “Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales”. *Revista SciELO* [en línea], 2010, (Brasil) 94(4), pp. 538-546. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n4/es_v94n4a19.pdf

- BDMTM.** *Kalanchoe pinnata (Lam.)Pers.* [blog]. México: 2009. [Consulta: 13 Enero 2017].
Disponible en:
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7493>
- CHUAQUI, B; DUARTE, I; et al.** Manuel de Patología General. [En línea], 2016 [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en:
<http://escuela.med.puc.cl/publ/patologiageneral/ManualPatologiaIndice.html>.
- BORDÉS, G; MARTÍNEZ, M; et al.** “El Proceso Inflamatorio”. *Revista Enfermería* [en línea], 2010, (España) 204(1), pp. 1-4. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en:
<https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/266/1994-5.pdf?sequence=1>
- BRAVO, Elizabeth.** *La biodiversidad en el Ecuador* [en línea]. Quito-Ecuador: Abya-Yala, 2014. [Consulta: 2 Marzo 2017]. Disponible en:
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf>
- CABRERA, D; SÁNCHEZ, Y; et al.** “Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de extractos de *Bryophyllum pinnata*.” *Revista Química Viva*. [en línea], 2011, (Cuba) (1), pp. 51-58. [Consulta: 7 Febrero 2017].]. ISSN 1666-7948 Disponible en:
www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v10n1/cabrera.pdf
- CARACTERISTICAS DE LA FITOTERAPIA.** [Blog], [Consulta: 24 Marzo 2017].
Disponible en: http://www.botanical-online.com/fitoterapia_plantas_medicinales.htm
- CASTELL, Jos V.** *Inflamación* [en línea]. España: 7 Noviembre 2005. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.uv.es/jcastell/Inflamacion.pdf>
- CCM Salud.** *Inflamación - Definición* [blog]. España: Marzo 2017. [Consulta: Consulta: 7 Marzo 2017]. Disponible en: <http://salud.ccm.net/faq/9841-inflamacion-definicion>
- CHATURVEDI, O; JOSHI, A; et al.** “Evaluación y actividad Antiinflamatoria de tallo de *Kalanchoe pinnata Pers.*”. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* [en línea], 2012, (India) 3(4). [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en:
<http://ijpsr.com/bft-article/pharmacognostical-phytochemical-evaluation-and-antiinflammatory-activity-of-stem-of-kalanchoe-pinnata-pers/?view=fulltext>
- CRUZ, E; REUTER, S; et al.** “*Kalanchoe Pinnata* inhibe la activación de células de masto y previene la enfermedad alérgica de las vías aéreas”. *ELSEVIER- Fitomedicina*. [en línea],

2012, (Brasil) 19(1), pp. 115-121. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://scihub.cc/10.1016/j.phymed.2011.06.030>

CRUZ, Paulina. “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco para neo-farmaco” ESPOCH, Ciencias, Bioquímica Y Farmacia. Lugar (Riobamba-Ecuador). 2009, pp. 1– 121.

GARCÍA, Pedro. “Inflammation”. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* [en línea], 2008, (España) 102(1), pp. 91-159. [Consulta: 7 Febrero 2017]. ISSN 1090-7807. Disponible en: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

GÓMEZ, J; SANTOS, G; et al. “Antiinflamatorios no esteroideos”. *Sociedad Valenciana reumatología* [en línea], 2015, (España), pp. 469-476. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.svreumatologia.com/wp-content/uploads/2008/04/Cap-26-Antiinflamatorios-no-esteroideos.pdf>

GONZALES, A; ELIZONDO, S; et al. “Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad”. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal* [en línea], 2011, (México) 79(2), pp. 209-2016. [Consulta: 7 Febrero 2017]. ISSN 0009-7411. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66221099017>

HALL, V; MURILLO, N; et al. *Antiinflamatorios no esteroideos (AINE'S)* [en línea]. Costa Rica: 2001. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed18.pdf>

IQB. *Diclofenaco- Vademécum* [blog]. Argentina: 26 Octubre, 2014. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/d020.htm>

JOSEPH, B; SRIDHAR, S; et al. “Planta Medicinal Rara Kalanchoe Pinnata”. *Research Journal of Microbiology*. [en línea] 2011, (Africa) 6, pp. 322-327 [Consulta: 22 Febrero 2017]. Disponible en:

MAE. Cuarto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica [en línea]. Quito-Ecuador: Marthra Editores, 2010. [Consulta: 4 Abril de 2017]. Disponible en: <https://www.cbd.int/doc/world/ec/ec-nr-04-es.pdf>

MENA, Patricio. *Biodiversidad en el Ecuador* [en línea]. Ecuador: 26 Febrero 2010. [Consulta: 4 Abril de 2017]. Disponible en: <http://www.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/49914.pdf>

MEJIA, Nancy P. Perfil fitoquímico de Cultivos en Suspensión de *Kalanchoe Daigremontian*. [En línea], 2015. [Consulta: 4 diciembre 2016.]. Disponible en: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/14861/1/Tesis%202015%20Mar%20C3%ADa%20Nancy%20P%20C3%A9rez%20%20Mej%20C3%ADa.pdf>.

MOYA, Ibeth. “Control de calidad de dos medicamentos de origen natural con actividad gastroprotectora, que se comercializa en el País” Universidad central del Ecuador, Ciencias Químicas, Bioquímica Y Farmacia. Lugar (Quito-Ecuador). 2013.pp, 1– 137. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2157/1/T-UCE-0008-32.pdf>

MURIEL, Jorge. *Farmacología de los Analgésicos no Opiáceos (AINEs)* [en línea].15 Enero 2009. Diclofenaco Sódico, 24. [Consulta: 16 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.catedradeldolor.com/PDFs/Cursos/Tema%206.pdf>

NRSP 309, 311 y 312 MINSAP 1992. *Normas Ramales de Drogas Crudas, Extractos y Tinturas*

NUÑES, Paulina. “Evaluación de la capacidad antioxidante y Antiinflamatoria de la combinación de tinturas a Base de matico (*eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*)” ESPOCH, Ciencias, Bioquímica Y Farmacia. Lugar (Riobamba-Ecuador). 2016. pp, 4–51. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/5729/1/56T00657.pdf>

OJEWOLE J. “Efectos anticonceptivos antiinflamatorio y antidiabéticos del extracto acuoso de *Bryophyllum Pinnatum* (Crassulaceae)” *ELSEVIER*. [en línea] 2005,99, pp. 13-19 [Consulta: 22 Febrero 2017]. Disponible en: <http://scialert.net/fulltext/?doi=jm.2011.322.327>

PATTEWAR, Seema V. “*Kalanchoe pinnata*” *International journal Pharmaceutical sciences and Research*. [en línea] 2012, (India), pp. 993-1000 [Consulta: 04 de 07 de 2016]. Disponible en: <http://ijpsr.com/bft-article/kalanchoe-pinnata-phytochemical-and-pharmacological-profile/?view=fulltext>

PEDIAMÉCUM. *Diclofenaco* [en línea].España: Junio 2016. [Consulta: 16 Febrero 2017]. Disponible en: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Diclofenaco.pdf>

PÉREZ, Cristian. *Qué es un antiinflamatorio* [blog]. 2017. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <https://www.natursan.net/que-es-un-antiinflamatorio/>

PUERTAS, M; TOBÓN J; et al. . “*Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet. & H. y su potencial uso como fuente de antioxidantes y colorantes naturales” *Revista SciELO*. [en línea] 2014, (Colombia), 19(1),pp. 1-6 [Consulta: 04 de 07 de 2016]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000100008

SECRETARIA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN Y DESAROLLO. *Objetivo 7 garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global* [en línea]. Quito: 2013-2017. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.buenvivir.gob.ec/objetivo-7.-garantizar-los-derechos-de-la-naturaleza-y-promover-la-sostenibilidad-ambiental-territorial-y-global>

SUPRATMAN, U; FUJITA, T; et al. “Promoción antitumoral de la porción de bufadienolidos de *Kalanchoe pinnata* y *Kalanchoe daigremontiana* por tubiflora”.*PubMed- Biosci Biotechnol Biochem*. [en línea], 2001, (Japón) 65(4). [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11388478>

VEGA, Gloria B. “Inflammation”. *Revista de la facultad de medicina de la UNAM* [en línea], 2008, (United State of America) 51(5), pp. 220-222. [Consulta: 7 Marzo 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2008/un085k.pdf>

VIBRANS, Heike. *Malezas de México*. [Blog] .México: 20 Julio, 2009. [Consulta: 20 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/crassulaceae/kalanchoe-pinnata/fichas/ficha.htm>

VILLALBA, Ericka W “Inflammation I”. *Revista de Actualización Clínica Investiga* [en línea], 2014, (Bolivia) 43(1), pp. 1-4. [Consulta: 7 Febrero 2017]. ISSN 2304-3768. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400004&script=sci_arttext

VILLAMIZAR, Leidy B; et al. “Hierba de bruja *Kalanchoe pinnata*”. *Fundación Universitaria JUAN N CORPAS*. [en línea], 2014,(Colombia) pp. 1-28. [Consulta: 04 de Diciembre de 2016]. Disponible en: http://www.biocomerciocolombia.com/docs/biocomercio_andino/Componente%201/Monografias/Monografia%20Kalanchoe%20pinnata.pdf.

ANEXOS

ANEXO A. Obtención de certificado del herbario de la ESPOCH



HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL CHIMBORAZO
Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com
Riobamba Ecuador

Ofc.No.017.CHEP.2016

Riobamba, 21 de junio del 2016

Ing. Marcelo Pino

DIRECTOR PROVINCIA MAE- CHIMBORAZO

De mis consideraciones:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente informo que bajo la responsabilidad del Srta. Marisela del Rocío Cucurí Pushug con CI: 0605022268, cuyo tema es *Determinación de la actividad anti-inflamatoria del extracto de la especie *Kalanchoe pinnata* (Lam.)Pers., revizando en el herbario, comunico que es una planta que se encuentra registrada y además introducida, de tal manera que la especie no vá ha ser ingresada a la colección

Anticipando mis agradecimientos por la atención a la presente

Me despido
Atte.

Ing. Jorge Caranqui
HERBARIO ESPOCH



ANEXO B. Lugar de recolección “Parque Ecológico -Riobamba”



ANEXO C. Recolección de *Kalanchoe pinnata*



ANEXO D. Secado de la materia prima



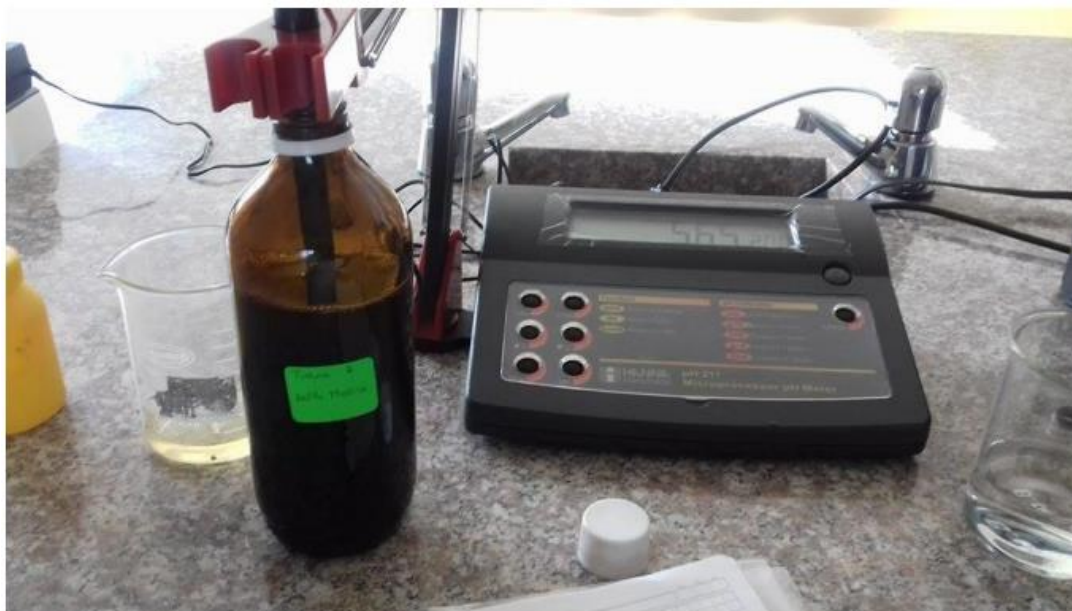
ANEXO E. Molienda de la materia prima



ANEXO F. Determinación de cenizas y humedad por método gravimétrico



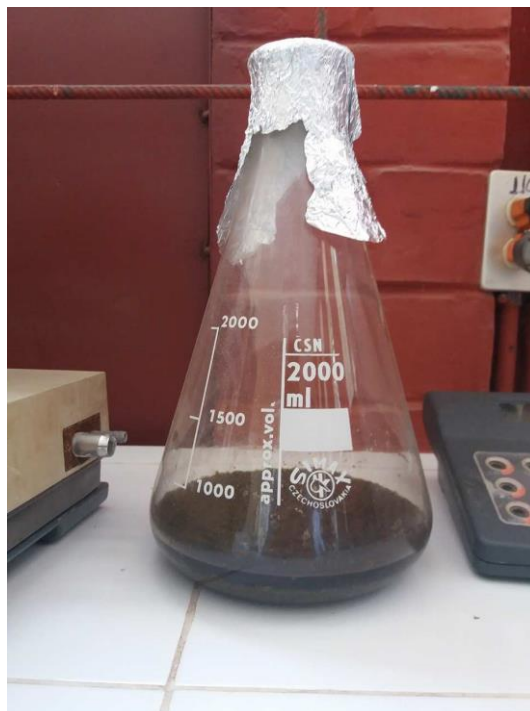
ANEXO G. Determinación de pH



ANEXO H. Tamizaje fitoquímico



ANEXO I. Maceración del material vegetal con alcohol al 96%



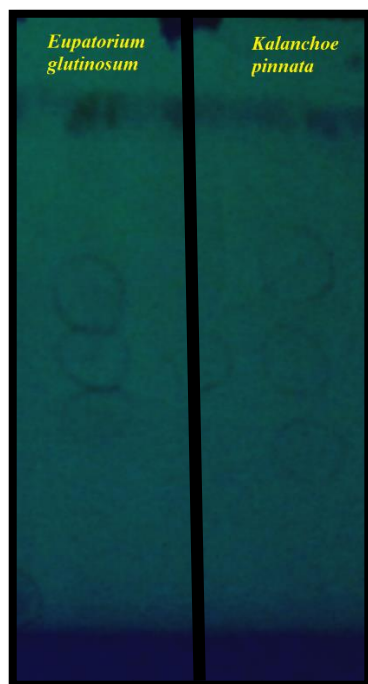
ANEXO J. Concentración del extracto alcohólico de *Kalanchoe pinnata*



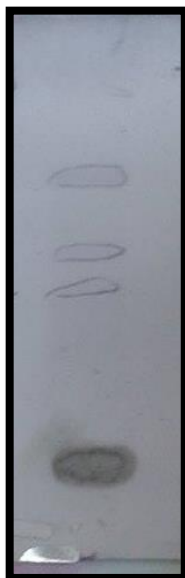
ANEXO K. Cromatografía en capa fina de *Kalanchoe pinnata* y *Eupatorium glutinosum*



ANEXO L. Cromatografía capa fina para flavonoides de *Kalanchoe pinnata* y *Eupatorium glutinosum*



ANEXO M. Cromatografía capa fina para terpenos de *Kalanchoe pinnata*



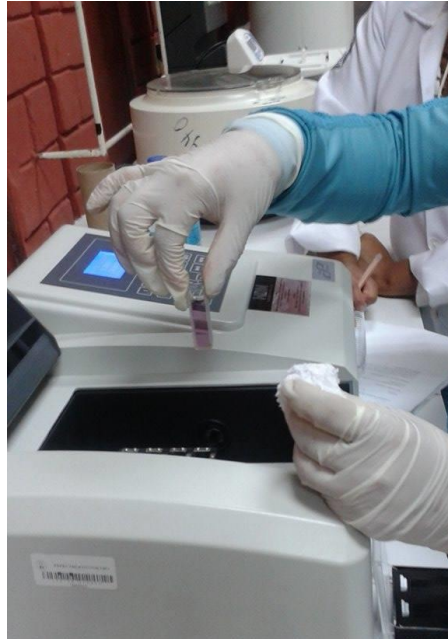
ANEXO N. Soluciones de quercetina para cuantificación de Flavonoides



ANEXO O. Preparación de las muestras para cuantificación de flavonoides



ANEXO P. Cuantificación de radicales libres por el método de DPPH*



ANEXO Q. Limpieza y desinfección de tamo



ANEXO R. Distribución y cuidado de los animales de experimentación



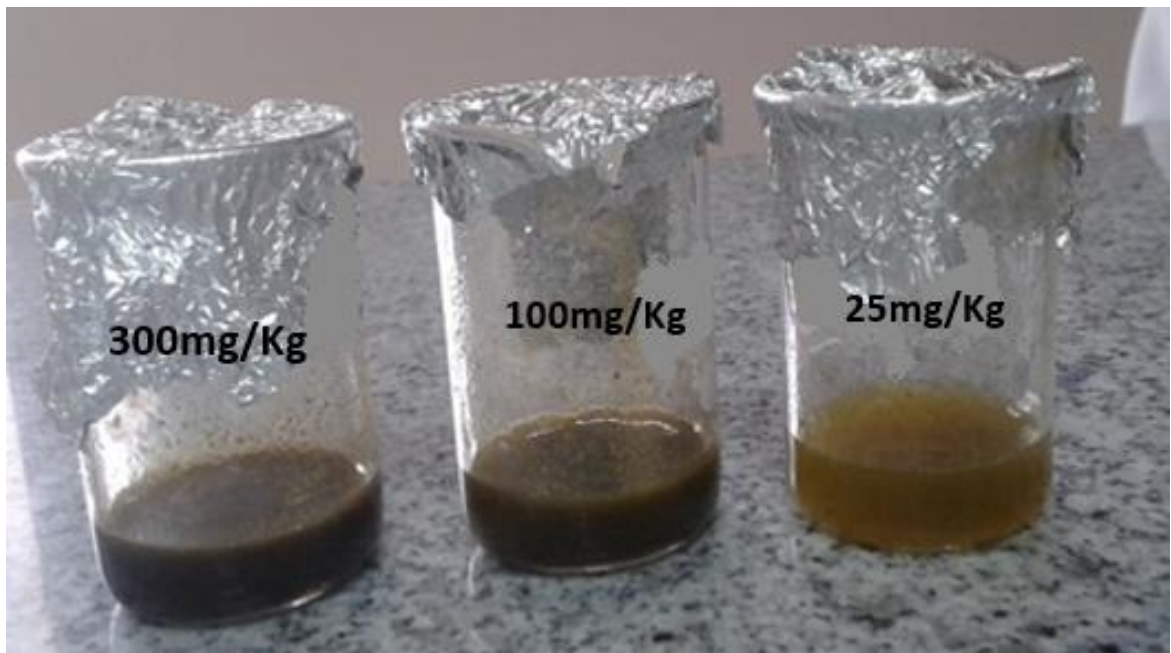
ANEXO S. Animales de experimentación *Rattus norvegicus*



ANEXO T. Tabla de dosificación para los animales de experimentación

CAJAS	CÓDIGO	COLORES	PESO	VOL.	VIA ADMINIS.	Dosis300 (g/ml)	Dosis100 (g/ml)	Dosis 25 (g/ml)
1ª	Blanco	VERDE	191	19.100	0.05892	0.05730	0.01910	0.00478
1ª	Diclofenaco	CAFE	192.4	19.240	0.05936	0.05772	0.01924	0.00481
1ª	Matico	NARANJA	195	19.500	0.06016	0.05850	0.01950	0.00488
1B	Rata 1B1	VERDE	195.3	19.530	0.06025	0.05859	0.01953	0.00488
1B	Rata 1B2	AZUL	187.5	18.750	0.05784	0.05625	0.01875	0.00469
1B	Rata 1B3	ROJO	180.4	18.040	0.05565	0.05412	0.01804	0.00451
2ª	Blanco	AMARILLO	198.3	19.830	0.061	0.059	0.020	0.005
2ª	Diclofenaco	ROSADO	201.5	20.150	0.062	0.060	0.020	0.005
2ª	Matico	AZUL	203.9	20.390	0.063	0.06117	0.02039	0.00510
2B	Rata 2B1	AMARILLO	204.7	20.470	0.063	0.06141	0.02047	0.00512
2B	Rata 2B2	VERDE	196.8	19.680	0.061	0.05904	0.01968	0.00492
2B	Rata 2B3	ROJO	198.1	19.810	0.061	0.05943	0.01981	0.00495
3ª	Blanco	AMARILLO	215.2	21.520	0.066	0.065	0.022	0.005
3ª	Diclofenaco	VERDE	207.8	20.780	0.064	0.062	0.021	0.005
3ª	Matico	ROJO	219.3	21.930	0.068	0.066	0.022	0.005
3B	Rata 3B1	AZUL	210	21.000	0.065	0.063	0.021	0.005
3B	Rata 3B2	NARANJA	214.6	21.460	0.066	0.064	0.021	0.005
3B	Rata 3B3	CAFÉ	215.3	21.530	0.066	0.065	0.022	0.005
4ª	Blanco	ROJO	223.7	22.370	0.069	0.067	0.022	0.006
4ª	Diclofenaco	AZUL	223.8	22.380	0.069	0.067	0.022	0.006
4ª	Matico	CAFÉ	243	24.300	0.075	0.073	0.024	0.006
4B	Rata 4B1	AMARILLO	221.6	22.160	0.068	0.066	0.022	0.006
4B	Rata 4B2	ROJO	220.9	22.090	0.068	0.066	0.022	0.006
4B	Rata 4B3	AZUL	232.9	23.290	0.072	0.070	0.023	0.006

ANEXO U. Extractos vehiculizados en forma de suspensión



ANEXO V. Inducción del edema con carragenina al 1% en suero fisiológico



ANEXO W. Administración de las dosis por vía oral



ANEXO X. Tabla general del ANOVA para todas las horas evaluadas

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
TIEMPO0 Entre grupos	.121	5	.024	1.557	.222
Dentro de grupos	.280	18	.016		
Total	.402	23			
TIEMPO1 Entre grupos	.097	5	.019	1.389	.275
Dentro de grupos	.251	18	.014		
Total	.347	23			
TIEMPO2 Entre grupos	.056	5	.011	.928	.486
Dentro de grupos	.217	18	.012		
Total	.272	23			
TIEMPO3 Entre grupos	.031	5	.006	.484	.784
Dentro de grupos	.230	18	.013		
Total	.261	23			
TIEMPO4 Entre grupos	.054	5	.011	.651	.664
Dentro de grupos	.300	18	.017		
Total	.355	23			
TIEMPO5 Entre grupos	.115	5	.023	1.389	.275
Dentro de grupos	.298	18	.017		
Total	.413	23			
TIEMPO6 Entre grupos	.160	5	.032	2.233	.096
Dentro de grupos	.258	18	.014		
Total	.418	23			
TIEMPO7 Entre grupos	.329	5	.066	7.538	.001
Dentro de grupos	.157	18	.009		
Total	.487	23			

ANEXO Y. Análisis de DMS para la hora 7

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: TIEMPO7

	(I) DOSIS (J) DOSIS		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	300	100	-.060750	.066095	.370	-.19961	.07811
		25	-.240750*	.066095	.002	-.37961	-.10189
		blanco	-.359250*	.066095	.000	-.49811	-.22039
		Diclofenaco	-.135000	.066095	.056	-.27386	.00386
		matico	-.152750*	.066095	.033	-.29161	-.01389
100	300	25	.060750	.066095	.370	-.07811	.19961
		blanco	-.180000*	.066095	.014	-.31886	-.04114
		Diclofenaco	-.298500*	.066095	.000	-.43736	-.15964
		matico	-.074250	.066095	.276	-.21311	.06461
			-.092000	.066095	.181	-.23086	.04686
25	300	100	.240750*	.066095	.002	.10189	.37961
		blanco	.180000*	.066095	.014	.04114	.31886
		Diclofenaco	-.118500	.066095	.090	-.25736	.02036
		matico	.105750	.066095	.127	-.03311	.24461
			.088000	.066095	.200	-.05086	.22686
blanco	300	100	.359250*	.066095	.000	.22039	.49811
		25	.298500*	.066095	.000	.15964	.43736
		Diclofenaco	.118500	.066095	.090	-.02036	.25736
		matico	.224250*	.066095	.003	.08539	.36311
			.206500*	.066095	.006	.06764	.34536
Diclofena co	300	100	.135000	.066095	.056	-.00386	.27386
		25	.074250	.066095	.276	-.06461	.21311
		blanco	-.105750	.066095	.127	-.24461	.03311
		matico	-.224250*	.066095	.003	-.36311	-.08539
			-.017750	.066095	.791	-.15661	.12111
matico	300	100	.152750*	.066095	.033	.01389	.29161
		25	.092000	.066095	.181	-.04686	.23086
		blanco	-.088000	.066095	.200	-.22686	.05086
		Diclofenaco	-.206500*	.066095	.006	-.34536	-.06764
			.017750	.066095	.791	-.12111	.15661

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.000.

ANEXO Z. Tabla de Tukey B para el tiempo 7

TIEMPO7

	DOSIS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
Tukey B ^a	300	4	2.34875		
	100	4	2.40950	2.40950	
	Diclofenaco	4	2.48375	2.48375	
	matico	4	2.50150	2.50150	
	25	4		2.58950	2.58950
	blanco	4			2.70800

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

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.000.