



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

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA MEZCLA
DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO
(*Thymus vulgaris L.*), ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) MEDIANTE EL TEST
DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”**

TESIS DE GRADO
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR

MAGDALENA DEL PILAR AGUAY SAQUICARAY

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios por darme la fuerza y la oportunidad de culminar una meta más en mi vida.

A mis padres Gladys y Jesús gracias por su esfuerzo diario, su amor y apoyo incondicional que han hecho posible la realización de mis más grandes sueños. A mis queridos hermanos Diana y David por ser fuente de mi inspiración y juntos compartir la alegría de la vida. Y por último pero no menos importante a mi prima Marcela y mis tías María Elena y Lucía por ser fuente de apoyo en los momentos difíciles han sido mi luz, mi guía y mi consuelo, para ustedes todo mi amor y agradecimiento.

AGRADECIMIENTO

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

Al BQF. Fausto Contero por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

Al BQF. Víctor Guangasig y al Dr. Carlos Pilamunga Miembros del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la elaboración del trabajo

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA MEZCLA DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*), ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus novergicus*)”, de responsabilidad de la señorita egresada Magdalena del Pilar Aguay Saquicaray, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz H. DECANA FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Luis Guevara I. DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
BQF. Fausto Contero B. DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
BQF. Víctor Guangasig T. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS ESCRITA	-----	

Yo, Magdalena del Pilar Aguay Saquicaray, 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

MAGDALENA DEL PILAR AGUAY SAQUICARAY

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1	MARCO TEÓRICO	1
1.1	Plantas Medicinales.....	1
1.1.1	Definiciones.....	1
1.1.2	Formación de los Principios Activos en la Planta Medicinal.....	2
1.1.3	Características de los Principios Activos.....	4
1.1.3.1	Aceites esenciales.....	4
1.1.3.2	Alcaloides.....	5
1.1.3.3	Antraquinonas y antracénoides.....	5
1.1.3.4	Cumarinas.....	6
1.1.3.5	Esteroles.....	7
1.1.3.6	Flavonoides.....	8
1.1.3.7	Taninos.....	8
1.1.3.7.1	Taninos Hidrolizables.....	9
1.1.3.7.2	Taninos Condensados (Protoantocianidinas).....	9
1.1.3.8	Mucílagos.....	9
1.1.3.9	Saponinas.....	10
1.1.3.10	Principios Amargos.....	10
1.1.3.11	Vitaminas, minerales.....	10
1.1.3.12	Heterósidos.....	10
1.1.4	Extracciones Botánicas.....	11
1.1.4.1	Métodos de Extracción.....	12
1.1.4.1.1	Maceración.....	12
1.1.4.1.2	Percolación.....	12
1.1.4.1.3	Digestión.....	13
1.1.4.1.4	Infusión.....	13
1.1.4.1.5	Decocción.....	13
1.1.4.2	Clasificación de los Extractos.....	13
1.1.4.2.1	Extractos Fluidos (1:1).....	13
1.1.4.2.2	Extractos Semisólidos o Blandos.....	14
1.1.4.2.3	Extractos Pulverizados o Secos.....	15
1.1.4.3	Fundamento del proceso de extracción.....	15
1.1.4.3.1	Extracción de Sólidos con Líquidos: Lixiviación.....	16
1.1.4.3.2	Variables de la Extracción Sólido-Líquido.....	17
1.1.5	Secado y Estabilización de las Plantas Recolectadas.....	17
1.1.6	Control de Calidad de la Droga Cruda Vegetal.....	18
1.1.7	Control de Calidad del Extracto Fluido.....	19
1.2	Plantas Medicinales utilizadas en la Evaluación Antiinflamatoria.....	20
1.2.1	Jengibre.....	20

1.2.1.1	Nomenclatura Botánica.....	20
1.2.1.2	Descripción Botánica.....	21
1.2.1.3	Hábitat.....	22
1.2.1.4	Parte Utilizada.....	22
1.2.1.5	Composición Química.....	22
1.2.1.5.1	Aceite esencial de la oleoresina.....	22
1.2.1.5.2	Principios Picantes.....	23
1.2.1.6	Composición Alimentaria.....	24
1.2.1.7	Acciones Farmacológicas.....	24
1.2.1.8	Farmacocinética.....	27
1.2.1.9	Toxicología, Efectos Adversos y Contraindicaciones.....	27
1.2.1.10	Formas Galénicas.....	28
1.2.2	Romero.....	29
1.2.2.1	Nomenclatura Botánica.....	29
1.2.2.2	Descripción Botánica.....	29
1.2.2.3	Hábitat.....	30
1.2.2.4	Parte utilizada.....	30
1.2.2.5	Composición Química.....	30
1.2.2.5.1	Aceite Esencial.....	31
1.2.2.5.2	Terpenoides.....	31
1.2.2.5.3	Flavonoides.....	31
1.2.2.6	Acciones Farmacológicas.....	32
1.2.2.7.	Contraindicaciones.....	34
1.2.2.8	Formas Galénicas.....	35
1.2.3	Tomillo.....	36
1.2.3.1	Nomenclatura Botánica.....	36
1.2.3.2	Descripción Botánica.....	36
1.2.3.3	Hábitat.....	37
1.2.3.4	Parte Utilizada.....	37
1.2.3.5	Composición Química.....	37
1.2.3.5.1	Aceite Esencial.....	37
1.2.3.5.2	Flavonoides.....	38
1.2.3.6	Análisis Proximal por 100 g de hojas frescas.....	38
1.2.3.7	Acciones Farmacológicas.....	39
1.2.3.8	Contraindicaciones.....	42
1.2.3.9	Formas Galénicas.....	43
1.3	Inflamación.....	43
1.3.1	Inflamación Aguda.....	44
1.3.2	Inflamación Crónica.....	45
1.3.3	Mecanismos que Intervienen en la Inflamación.....	46
1.3.3.1	Migración Leucocitaria.....	46
1.3.3.2	Mediadores Celulares.....	47
1.3.3.3	Mediadores Químicos.....	48
1.3.3.4	El Factor Activador de Plaquetas (FAP).....	49
1.3.3.5	El Oxido Nítrico (NO).....	49
1.3.3.6	Enzimas Lisosomales.....	50
1.3.3.7	Las especies reactivas del Oxígeno (ERO).....	50
1.4	Tratamientos empleados en Procesos Inflamatorios.....	51

1.4.1	Fármacos Antiinflamatorios.....	53
1.4.1.1	Antiinflamatorios No Esteroides (AINES).....	53
1.4.1.2	Antiinflamatorios Esteroides (AIES).....	54
1.4.1.3	Naproxeno Sódico.....	55
1.5	Modelo de Inflamación Aguda inducida con Carragenina.....	56
2	PARTE EXPERIMENTAL.....	58
2.1	Lugar de investigación.....	58
2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	58
2.2.1	Reactivo Biológico.....	58
2.2.2	Materia Prima.....	60
2.2.3	Equipos.....	60
2.2.4	Materiales de Laboratorio y otros.....	61
2.2.5	Reactivos.....	62
2.3	Técnicas y Métodos.....	63
2.3.1	Determinación de los Parámetros de Calidad de la Droga Vegetal.....	63
2.3.1.1	Método Físico-Químico de Análisis.....	63
2.3.1.1.1	Determinación de Humedad.....	64
2.3.1.1.2	Determinación de cenizas totales.....	64
2.3.1.1.3	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	66
2.3.1.1.4	Determinación de cenizas solubles en agua.....	66
2.3.2	Parámetros de Calidad Microbiológica de la Droga Vegetal.....	67
2.3.2.1	Límites de Contaminación Microbiana en materiales procedentes de Plantas Medicinales.....	68
2.3.2.2	Método Petrifilm para la determinación del Recuento de Microorganismos.....	69
2.3.2.3	Método Petrifilm Recuento de Aerobios mesófilos totales.....	70
2.3.2.4	Método Petrifilm Recuento de Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	71
2.3.2.5	Método Petrifilm Recuento de Levaduras y Mohos.....	72
2.3.3	Elaboración de los Extractos Fluidos.....	74
2.3.4	Parámetros de Calidad de los Extractos Fluidos de Jengibre, Romero y Tomillo.....	74
2.3.4.1	Parámetros de Calidad Físicos.....	75
2.3.4.1.1	Determinación de los requisitos organolépticos.....	75
2.3.4.1.2	Determinación de la densidad relativa.....	75
2.3.4.1.3	Determinación del índice de Refracción.....	76
2.3.4.1.4	Determinación del pH.....	77
2.3.4.1.5	Determinación de Sólidos totales.....	78
2.3.4.2	Parámetros de Calidad Químico-Cualitativo (Tamizaje Fitoquímico).....	79
2.3.4.2.1	Ensayo de Dragendorff.....	79
2.3.4.2.2	Ensayo de Wagner.....	79
2.3.4.2.3	Ensayo de Fehling.....	79
2.3.4.2.4	Ensayo de Liebermann-Burchard.....	80
2.3.4.2.5	Ensayo de Borntrager.....	81
2.3.4.2.6	Ensayo de Baljet.....	81
2.3.4.2.7	Ensayo de Sudan III.....	81
2.3.4.2.8	Ensayo de Resinas.....	82
2.3.4.2.9	Ensayo Espuma.....	82
2.3.4.2.10	Ensayo del Cloruro Férrico.....	82

2.3.4.2.11	Ensayo de Shinoda	83
2.3.4.2.12	Ensayo de Antocianidinas	83
2.3.4.3	Identificación del Compuesto Representativo Cromatografía de Capa Fina...	83
2.3.4.4	Prueba de Edema Plantar en Rata Inducido por Carragenina.....	84
2.3.4.4.1	Modelo Experimental.....	87
2.3.4.5	Evaluación de la Toxicidad Aguda de Extractos de Plantas Medicinales.....	89
2.3.4.5.1	Diseño Experimental.....	89
2.3.4.5.2	Estudio Histopatológico.....	91
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	93
3.1	Control de Calidad de la Droga Cruda Vegetal.....	93
3.1.1	Determinación del contenido de Humedad.....	93
3.1.2	Determinación de Cenizas Totales.....	94
3.1.3	Parámetros de Calidad Microbiológica de la Droga Vegetal.....	96
3.2	Determinación de Parámetros de Calidad de los Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero.....	98
3.2.1	Descripción Organoléptica.....	98
3.2.2	Parámetros Físicos.....	98
3.2.3	Reacciones de Caracterización (Tamizaje Fitoquímico).....	100
3.2.4	Identificación del Compuesto Químico Representativo.....	102
3.2.5	Actividad Antiinflamatoria de las formulaciones en estudio.....	105
3.2.6	Análisis Estadístico.....	108
3.2.7	Hipótesis Estadística.....	116
3.2.8	Evaluación de la Toxicidad Aguda de la Formulación 2.....	120
3.2.9	Estudio Histopatológico.....	123
4	CONCLUSIONES.....	126
5	RECOMENDACIONES.....	128
6	RESUMEN.....	129
	SUMMARY.....	130
7	BIBLIOGRAFÍA.....	131
8	ANEXOS.....	143

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidónico
AIES	Antiinflamatorios Esteroideos
AINES	Antiinflamatorios No Esteroideos
CAM	Complejo de Ataque a la Membrana
CCDA	Citotoxicidad Celular Dependiente del Anticuerpo
COX	Enzima Ciclooxygenasa
CSF	Factor Estimulador de las Colonias
FAP	Factor Activador de Plaquetas
FCNK	Factor citotóxico
Fc XII	Factor Hageman
HHT	Acido Hidroxiheptadecatrienóico
HLA	Antígeno Leucocitario Humano
Ig	Inmunoglobulinas
IFN o INF	Interferones
IL	Interleucinas
L _B	Linfocitos B
5-LOX	Enzima 5-lipooxygenasa
LT	Leucotrienos
L _T	Linfocitos T
MDA	Acido Malondialdehído
MFP	Moléculas Formadores de Poros
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
MHC-I	Genes de clase I
MHC-II	Genes de clase II
MHC-III	Genes de clase III
MIF	Factor de Migración de los Macrófagos
NK	Células Asesinas Naturales
PGI	Prostaciclina
PG _s	Prostaglandinas
SC	Sistema del Complemento
T _C	Linfocitos T citotóxicos
T _H	Linfocitos T cooperadores
TNF α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
TNF β	Factor β de transformación del crecimiento
TPA	12-O-tetradecanoílforbol-13-acetato
TXA	Tromboxanos
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
R1	Primera repetición
R2	Segunda repetición
R3	Tercera repetición
pH	Potencial hidrogeno
OMS	Organización mundial de la Salud
Rf	Franja de referencia
DL ₅₀	Dosis letal 50
ANOVA	Análisis de varianza
B1	Jengibre 14,3mg/Kg

B2	Tomillo 42,9mg/Kg
B3	Romero 28,6mg/Kg
F1	Formulación 1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg
F2	Formulación 2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg
F3	Formulación 3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg
T1	Tratamiento 1 empleado la F1
T2	Tratamiento 2 empleado la F2
T3	Tratamiento 3 empleado la F3
T4	Grupo Control Carragenina 0,5%
T5	Medicamento de Referencia Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg
RFE	Real Farmacopea Española

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No.1	Mediadores Químicos de la Inflamación Aguda de acuerdo con su origen.....	48
TABLA No. 2	Ejemplos de Enfermedades Inflamatorias.....	52
TABLA No. 3	Método Petrifilm para la Determinación del Recuento de Microorganismos contaminantes en la droga vegetal.....	70
TABLA No. 4	Rango de Masa Corporal con Relación a la edad en semanas de la especie y línea del modelo biológico.....	122

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Modelo Experimental en la Evaluación Antiinflamatoria.....	87
CUADRO No. 2	Formulaciones utilizados en la Evaluación Antiinflamatoria, empleando el Modelo del Edema Inducido por Carragenina ...	88
CUADRO No. 3	Tratamientos utilizados en la Evaluación Antiinflamatoria, empleando el Modelo del Edema Inducido por Carragenina ...	88
CUADRO No. 4	Determinación de Humedad en Planta Fresca de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre 2011.....	93
CUADRO No. 5	Determinación de Humedad en Droga seca y molida de las Plantas de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre 2011.....	94
CUADRO No. 6	Determinación de Cenizas en Planta Fresca de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre 2011.....	94
CUADRO No. 7	Determinación de Cenizas en Droga seca y molida de las Plantas de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre 2011.....	95
CUADRO No. 8	Examen Físico de la Droga seca y molida de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Microbiología ESPOCH. Diciembre 2011.....	96
CUADRO No. 9	Determinación de Aerobios Mesófilos Totales, Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Mohos y Levaduras por el método de Petrifilm en droga seca y molida de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Microbiología ESPOCH. Diciembre 2011.....	97
CUADRO No. 10	Descripción Organoléptica del Extracto Fluido de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre-Noviembre 2011.....	98

CUADRO No. 11	Determinación de Parámetros de Calidad del Extracto Fluido de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Octubre-Noviembre 2011.....	98
CUADRO No. 12	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Fluido de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>), Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) y Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). Laboratorio de Productos Naturales ESPOCH. Noviembre 2011.....	100
CUADRO No. 13	Actividad Antiinflamatoria de distintas formulaciones de Jengibre, Tomillo, Romero y Naproxeno Sódico sobre el edema plantar inducido con Carragenina en ratas. Valores medios de la diferencia del grosor de la almohadilla plantar respecto al inicio del ensayo. Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Diciembre 2011.	105
CUADRO No. 14	Análisis de Varianza de un Factor para los Porcentajes de Inflamación.....	116
CUADRO No. 15	Resultado Estadístico para grupos Homogéneos Porcentaje de Inflamación aplicando Tukey.....	117
CUADRO No. 16	Análisis de Varianza de un Factor para los Porcentajes de Inflamación desarrollados a la Sexta Hora.....	117
CUADRO No. 17	Resultado Estadístico para grupos Homogéneos Porcentaje de Inflamación Sexta Hora aplicando Tukey.....	118
CUADRO No. 18	Análisis de Varianza de un Factor para los Porcentajes de Inhibición desarrollados a la Sexta Hora.....	118
CUADRO No. 19	Resultado Estadístico para grupos Homogéneos Porcentaje de Inhibición Desarrollados a la Sexta Hora aplicando Tukey.....	118
CUADRO No. 20	Pruebas de Evaluación: Observación de Signos Clínicos cada 30-60-120-240-360 min. Del 15 de Diciembre al 28 de Diciembre del 2011. Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.....	120
CUADRO No. 21	Pruebas de Evaluación de Signos Clínicos durante 14 días. Del 15 de Diciembre al 28 de Diciembre del 2011. Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.....	121
CUADRO No. 22	Evolución de la Masa Corporal en Función del Tiempo (Grupo Experimental).....	121
CUADRO No. 23	Evolución de Masa Corporal en Función del Tiempo (Grupo Testigo).....	122

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Volumenes registrados de los diferentes Tratamientos Sobre el Edema subplantar inducido por Carragenina. Espoch Noviembre 2011.....	107
GRÁFICO No. 2	Efecto Antiinflamatorio de diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y naproxeno sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la primera hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	108
GRÁFICO No. 3	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la segunda hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	109
GRÁFICO No. 4	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la cuarta hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	109
GRÁFICO No. 5	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la sexta hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	110
GRÁFICO No. 6	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la octava hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	111
GRÁFICO No. 7	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3:	

	57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la décima hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	111
GRÁFICO No. 8	Efecto Antiinflamatorio de Diferentes Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg sobre el edema subplantar inducido por Carragenina 0,5 % en ratas a la doceava hora de administración. Espoch Noviembre 2011.....	112
GRÁFICO No. 9	Porcentajes de Inflamación del Edema Plantar de Distintas Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg. Espoch Noviembre 2011.....	113
GRÁFICO No. 10	Porcentajes de Inhibición del Edema Plantar de Distintas Formulaciones de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg y Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg. Porcentajes de reducción del Edema Plantar respecto al grupo control (Carragenina 0,5 %). Espoch Noviembre 2011.....	115

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Principios Activos (<i>Zingiber officinale Roscoe</i>).....	24
FIGURA No. 2	Ácido Rosmarínico (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>).....	31
FIGURA No. 3	Timol (<i>Thymus vulgaris L.</i>).....	38
FIGURA No. 4	Inflamación Aguda.....	45
FIGURA No. 5	Inflamación Crónica.....	46
FIGURA No. 6	Mecanismo de acción de los Antiinflamatorios Esteroides y No Esteroides.....	54

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Planta de Jengibre, <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	20
FOTOGRAFÍA No. 2	Planta de Romero, <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	29
FOTOGRAFÍA No. 3	Planta de Tomillo, <i>Thymus vulgaris</i> L.....	36
FOTOGRAFÍA No. 4	Placa Cromatográfica del Extracto Fluido de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	102
FOTOGRAFÍA No. 5	Placa Cromatográfica del Extracto Fluido de Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.). 1. Residuo del Extracto Clorofórmico de Tomillo; 2. Residuo del Extracto Metanólico de Tomillo.....	103
FOTOGRAFÍA No. 6	Placa Cromatográfica del Extracto Fluido de Romero <i>Rosmarinus officinalis</i>).1. Residuo del Extracto Clorofórmico de Romero; 2. Residuo de la extracción con Tolueno de Romero.....	104
FOTOGRAFÍA No. 7	Necropsia de los ejemplares del grupo experimental y testigo del ensayo de Toxicidad Aguda a dosis fijas 2000mg/Kg de la Formulación 2, realizado en el Bioterio de la Facultad de Ciencias.Escuela de Bioquímica y Farmacia. Diciembre 2011.....	123
FOTOGRAFÍA No. 8	Extensión de los Estómagos del grupo experimental y testigo del Ensayo de Toxicidad Aguda a dosis única 2000mg/Kg.	123
FOTOGRAFÍA No. 9	Corte Histológico de la Estructura del Hígado del grupo experimental y testigo.....	124
FOTOGRAFÍA No. 10	Corte Histológico de la Estructura de los Riñones del grupo experimental y testigo.....	125

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Parámetros de Calidad de la Droga Cruda.....	143
ANEXO No. 2	Determinación de Microorganismos Contaminantes en la Droga Cruda Método Petrifilm.....	144
ANEXO No. 3	Método de Percolación para la obtención de los extractos fluidos y Concentración a presión reducida.....	145
ANEXO No. 4	Parámetros de Calidad de los Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero.....	145
ANEXO No. 5	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Fluido de Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	146
ANEXO No. 6	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Fluido de Tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>).....	147
ANEXO No. 7	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Fluido de Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	148
ANEXO No. 8	Ensayo Farmacológico en Ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	149
ANEXO No. 9	Registro de las mediciones de largo y diámetro de la región subplantar de las ratas a los diferentes tiempos después de la inyección de Carragenina 0,5%.....	150
ANEXO No. 10	Registro de las mediciones de largo y diámetro de la región subplantar de las ratas a los diferentes tiempos después de la administración de Naproxeno Sódico 12,40 mg/Kg.....	151
ANEXO No. 11	Registro de las mediciones de largo y diámetro de la región subplantar de las ratas a los diferentes tiempos después de la administración de la Formulación 1.....	152
ANEXO No. 12	Registro de las mediciones de largo y diámetro de la región subplantar de las ratas a los diferentes tiempos después de la administración de la Formulación 2.....	153
ANEXO No. 13	Registro de las mediciones de largo y diámetro de la región subplantar de las ratas a los diferentes tiempos después de la administración de la Formulación 3.....	154
ANEXO No. 14	Preparación del Ensayo de Toxicidad Aguda en las ratas (<i>Rattus novergicus</i>).....	155

ANEXO No. 15	Análisis Histopatológico del Hígado y Riñón Derecho e Izquierdo del Grupo Testigo.....	155
ANEXO No. 16	Análisis Histopatológico del Hígado y Riñón Derecho e Izquierdo del Grupo de Experimentación Rata 1.	156
ANEXO No. 17	Análisis Histopatológico del Hígado y Riñón Derecho e Izquierdo del Grupo de Experimentación Rata 2.....	157
ANEXO No. 18	Análisis Histopatológico del Hígado y Riñón Derecho e Izquierdo del Grupo de Experimentación Rata 3.....	158
ANEXO No. 19	Efecto de los Tratamientos sobre el Edema Plantar Inducido por Carragenina.....	159

INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica clínica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los médicos. (28)

Los metabolitos que contienen las plantas medicinales pueden interactuar con otros, bien sean de plantas o bien de medicamentos. Estas interacciones son exactamente del mismo tipo que las interacciones entre los fármacos, pudiendo ser por tanto de carácter farmacodinámico o farmacocinético y los efectos que se van a producir disminuirán o aumentarán el metabolismo. (30)

Desde hace algunos años, tanto países altamente desarrollados como aquellos países subdesarrollados con escasos recursos económicos, ha retomado y desarrollado el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos en lo que se ha llamado la Revolución Verde de la Medicina. (30)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos. (28)

La OMS y el Parlamento Europeo han adoptado resoluciones que ponen de manifiesto la necesidad de racionalizar el empleo de los productos derivados de las plantas medicinales con el objetivo de limitar la prescripción, de aquellos productos de fitoterapia que carezcan de estudios previos para avalar el uso de los mismos, o de plantas de las que no se conocen suficientemente los riesgos de su utilización. (77)

Una de las patologías que despierta gran interés en las investigaciones actuales es la inflamación, interpretada como un estado complejo que posee fenómenos generales definidos, que conduce al organismo a una reacción contra un agente infeccioso, o daños físicos o químicos, y que se caracteriza esencialmente por los síntomas de rubor, calor y

dolor, a los que se añade el de trastorno funcional, el cual se manifiesta por vasoconstricción, seguida de vaso dilatación, lentitud de la corriente sanguínea, acumulación y emigración de leucocitos, exudación de líquido y fase de cicatrización.(54)

En algunas de sus múltiples formas y manifestaciones, la inflamación se esconde tras la causa más importante de muerte en el mundo actual. Además, representa una característica permanente de muchas otras enfermedades que pueden no ser mortales pero que, sin embargo , provocan grandes sufrimientos e incapacidad, que puede transcurrir hacia una situación crónica que suele dar lugar a enfermedades degenerativas como la inflamación se oculta detrás de la artritis reumatoide, las cardiopatías reumáticas, acné, psoriasis, arteriosclerosis, enfermedades hepáticas, renales crónicas entre otras. (4)

A pesar de la potente acción antiinflamatoria que le es atribuida, a los fármacos antiinflamatorios estos compuestos presentan una alta incidencia de efectos adversos. Si bien los AINEs constituyen uno de los grupos de medicamentos más prescritos por presentar una gran variedad de indicaciones terapéuticas, dada su combinación variable de acciones antiinflamatoria, analgésica, antipirética y antiagregante plaquetaria, su utilización se ve limitada, por la posible aparición de efectos adversos potencialmente letales. (6)(22)(31)

Estos efectos adversos de los AINEs han sido conocidos desde su introducción, prácticamente a la par que sus propiedades terapéuticas; y son responsables de ingresos hospitalarios e incluso fallecimientos en todo el mundo. Ante esta problemática y la necesidad de reducir estos efectos se han desarrollado nuevos fármacos más selectivos (inhibidores de la cicloxigenasa 2) que, manteniendo sus propiedades terapéuticas, producen menores efectos indeseables. En muchos casos estos fármacos no han resuelto la totalidad del problema, por lo cual la búsqueda de alternativas naturales parece ser una solución viable. (31)

En este contexto la utilización de formulaciones de extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero especies que contienen en su composición principios activos que son poderosos inhibitorios de las prostaglandinas y antioxidantes, puede resultar una

posibilidad de ampliación del arsenal terapéutico para la población que padece afecciones que cursan con procesos inflamatorios.

El objetivo es proporcionar un tratamiento natural, seguro, efectivo y económico. Al realizar el control de calidad de la materia prima y control microbiológico para evaluar las buenas prácticas de manufactura en la recolección, almacenamiento y procesamiento del mismo y comprobar *in vivo* la actividad antiinflamatoria empleando el test de edema inducido con Carragenina 0,5 % modelo experimental que se encuentra involucrado con la liberación de histamina y serotonina en la primera fase de la inflamación y en una segunda fase posterior no menos importante están presentes las prostaglandinas; de ahí que los compuestos inhibidores de la síntesis de prostaglandinas resultan eficaces en la inhibición de dicho edema. A partir de los porcentajes de inflamación del edema obtenido con la Carragenina podríamos sugerir que las formulaciones de Jengibre, Tomillo y Romero inhiben la liberación o acción de las prostaglandinas, resultando poseer un efecto antiinflamatorio similar al Naproxeno sódico. Esta actividad podría estar relacionada con la presencia en estas formulaciones de flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas y mucílagos.

Al evaluar el grado de toxicidad de la formulación más efectiva empleando el ensayo de toxicidad aguda a dosis fijas se determina la dosis letal media y si la administración prolongada de esta sustancia produce efectos adversos sobre el estómago, hígado y riñones realizando observación de los signos clínicos y peso de los animales de experimentación para establecer si presenta efectos nocivos a dosis altas 2000mg/Kg realizando su respectivo estudio histopatológico de los grupo tratados.

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron evaluar la Actividad Antiinflamatoria de la Mezcla de Extractos Fluidos de Jengibre (*Zingiber officinale*), Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante el Test de Edema Inducido en Ratas (*Rattus norvegicus*), realizar el control de calidad de las Especies Vegetales utilizadas, extractos fluidos y finalmente evaluar el grado de toxicidad de la formulación más efectiva mediante el ensayo de toxicidad aguda a dosis fijas. La hipótesis propuesta fue que “La Mezcla de Extractos Fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero posee actividad antiinflamatoria similar al naproxeno sódico.”

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 PLANTAS MEDICINALES

1.1.1 DEFINICIONES

Los vegetales hacen posible la vida del organismo animal y condicionan su estado de salud, mediante la elaboración de dos clases de componentes químicos complejos, denominados principios inmediatos y principios activos. (16)

Los principios inmediatos, prótidos, glúcidos y lípidos, son sustancias que no ejercen una actividad farmacológica directa sobre las funciones fisiológicas del organismo animal, pero le son imprescindibles para mantener su vida. Los vegetales que los elaboran y que constituyen la base nutritiva directa de los animales herbívoros, e indirecta, a través de estos, de los carnívoros, reciben el nombre de plantas medicinales. (16)

Plantas medicinales: Son aquellos vegetales que elaboran unos productos llamados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial, a veces específica, es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida; es decir que tienden a disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico que es la enfermedad. Constituyen aproximadamente la séptima parte de las especies existentes.(16)

Droga: En el sentido amplio, es cualquier sustancia, de origen mineral, vegetal o animal, que tiene aplicaciones en los campos de la medicina, industria y bellas artes; pero desde

muy antiguo se ha asignado este nombre a cualquier especie, fundamentalmente vegetal, que contengan principios activos y modernamente se reserva la palabra droga a las diversas partes del vegetal que contiene aquellos principios activos, es decir a su parte útil. Si sufre una manipulación, que no sea el secado, de donde deriva su nombre, o troceado, la droga se denomina medicamento. (16)

Planta oficial: Es la que, por sus propiedades farmacológicas, está recogida en la farmacopea, o que forma parte de un medicamento preparado conforme a las reglas de aquélla. (16)

Plantas Aromáticas: Son aquellas plantas medicinales cuyos principios activos están constituidos, total o parcialmente, por esencias. Su número viene a ser un 0,66 % del total de las plantas medicinales.

Plantas condimentarias o especias: Existe un cierto número de plantas aromáticas, por tanto medicinales, que el hombre utiliza por sus características organolépticas, que comunican a los alimentos y bebidas ciertos aromas, colores y sabores, que los hacen más apetitosos, gratos y sabrosos al olfato, vista y paladar. (16)

Plantas apícolas, melíferas o poliníferas: Son aquellas que atraen a las abejas y de las que recogen néctar, polen y mielada, para la alimentación de la colmena, o propóleos para otros usos en ella. Todas ellas contienen principios activos, por lo que son medicinales.(16)

1.1.2 FORMACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN LA PLANTA MEDICINAL

Los principios activos son los que definen y sirven para clasificar a estas plantas y el principal criterio para su selección y mejora, el control del rendimiento y calidad de productos del cultivo y procesado industrial, así como los que dotan a la planta de sus propiedades y usos terapéuticos. (16)

En un vegetal superior, la raíz actúa a modo de bomba que absorbe del suelo el agua, las sales minerales y los nitratos, savia bruta, que impulsa y reparta por todo el vegetal, cuyas hojas constituyen uno de sus órganos más interesantes, pues en ellas tienen lugar la mayoría de los procesos metabólicos de la planta; parte de estas hojas, que reciben la savia bruta a través del tallo, mediante la acción de unos complejos enzimáticos o fermentos que contienen, elaboran dos clases de compuestos nitrogenados; los prótidos o proteínas, nutrientes imprescindibles para la vida y los alcaloides, principios activos de acción fisiológica específica y energética. Estas hojas, con el concurso de dos elementos externos el agua y el suelo, han sintetizado un principio inmediato y otro activo, por lo que constituyen un eslabón ineludible en la cadena de la vida animal. (16)

Las hojas, que además del agua del suelo, reciben la energía solar, absorben el anhídrido carbónico del aire (CO_2) y realizan la fotosíntesis de compuestos orgánicos, los glúcidos, que se producen en los cloroplastos de las hojas que contienen la clorofila. La normal respiración de la célula vegetal, absorción de O_2 y emisión de CO_2 , queda enmascarada durante las horas de luz, por la fotosíntesis o función clorofílica. Del conjunto de ambas funciones se produce un predominio de la emisión de O_2 durante el día y ligero desprendimiento de CO_2 por la noche. (16)

Una parte de los glúcidos formados en la fotosíntesis constituyen los elementos de reserva de la planta, que ésta almacena en sus diferentes órganos y forman nueva células vegetales. Otra parte se transforma en compuestos secundarios los lípidos y sus aceites; los terpenos y componentes aromáticos, de cuyo conjunto se forman esencias y resinas; los heterósidos, combinación de azúcares y sustancias activas; los ácidos orgánicos. (16)

Las plantas también elaboran en su metabolismo los taninos, vitaminas, sustancias antibióticas y concentran los elementos minerales. Es decir que la planta medicinal utiliza los cuatro elementos clásicos: agua, tierra, aire y fuego (energía solar=calor y luz) para elaborar los principios inmediatos o alimenticios, prótidos, glúcidos y lípidos, los ácidos orgánicos, vitaminas y todos los principios activos o medicinales, así como concentrar los elementos minerales del suelo. (16)

De estos hechos se desprende el valor alimenticio de ciertos órganos de las plantas medicinales, cuyos principios activos se acumulan en otros órganos, determinados en cada especie, llamados drogas. Su aprovechamiento integral, suministra alimento y medicina, es decir, que tiene carácter dietético. (16)

1.1.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

1.1.3.1 Aceites esenciales

Son también desechos del metabolismo de la planta. Comprende las esencias vegetales y la resinas. Se presentan en emulsiones que tienen a formar gotitas, no son solubles en agua, pero disuelven bien en éter, alcohol o aceite. A menudo la planta los vierte al exterior, por medio de los canales excretores. Las esencias vegetales, que son volátiles, se difunden a través de la epidermis de las hojas y de las flores; expanden a menudo un olor muy pronunciado y son los compuestos que dan perfume a los vegetales. (14)(16)

Las esencias son compuestos terpénicos y los terpenos están formados por largas cadenas de un hidrocarburo dietilénico, isopreno. Como los isoprenos pueden unirse entre sí de muchas formas, el número de esencias es muy alto. Las resinas normalmente están disueltas en esencias y aparecen como residuos viscosos o sólidos cuando aquellos se evaporan. (2)(16)

Los aceites esenciales químicamente están formados por la mayoría de los monoterpenos y algunos sesquiterpenos, y compuestos aromáticos. Los monoterpenos y los sesquiterpenos son biosintetizados a partir de los pirofosfatos de geranilo y de farnesilo respectivamente; las reacciones de ciclación, oxidación y otras, pueden originar las diferentes estructuras. Los aromáticos se biosintetizan a través de la ruta shikimato. (14)

Se obtienen a partir de diferentes plantas mediante destilación, prensado o extracción por agentes. Usados, diferentemente, para fabricar fragancias, también tienen aplicación como sustancia beneficiosa en la aromaterapia y son muy apreciados para perfumar ambientes o como productos de baño. Suelen tener efecto antibiótico, expectorante,

antiespasmódico, digestivo y diurético, aunque depende mucho de su concentración.(14)(32)

1.1.3.2 Alcaloides

Son componentes nitrogenados cuya función en la planta no está bien determinada. Su química es compleja y se les clasifica, según la composición de su núcleo, en una quincena de grupos diferentes. Aparecen en diversos órganos, según la especie vegetal.(14)(16)

Pueden ser sólidos, solubles en alcohol o insolubles en el agua. Se extraen mediante el agua, alcohol, con álcalis y con disolvente. Son el resultado del metabolismo de los aminoácidos. Su función es como reguladores del crecimiento y protege a la planta contra los insectos y parásitos (repelentes o atractores). (21)(32)

Son sustancias muy activas, algunas altamente tóxicas. Químicamente, suelen ser compuestos derivados de la quinoleína, piridina, pirimidina, etc. Contienen uno o más átomos de nitrógeno (generalmente en anillo heterocíclico). (2)

Los alcaloides derivan principalmente de los aminoácidos ornitina, lisina y fenilalanina (o tirosina), triptófano, y el ácido antranílico, a través de una serie de reacciones, entre ellas, reacciones tipo aldólica entre dos compuestos conteniendo grupos $-C=N$, reacciones tipo Mannich, de formación de bases de Schiff, oxidaciones y reducciones, isomerizaciones, deaminaciones, etc. (14)

1.1.3.3 Antraquinonas y antracénoides

Los compuestos antracénicos vegetales pueden clasificarse según su estado de oxidación en siete grupos estructurales: (32)

Antraquinonas

- Antronas

- Diantronas
- Antranoles
- Oxantronas
- Naftodiantronas
- Antrahidroquinonas
- Emoides (32)

Dependiendo de la dosis, las 1,8-antraquinonas ejercen una actividad laxante o purgante más o menos violenta. A dosis terapéuticas ellas son laxantes. (19)

El uso de estos fármacos y sus preparaciones están justificados en preparaciones para radiología o coloscopia, ablandamiento de heces antes de cirugías anorectales, tratamiento de constipación ocasional asociada con tratamientos de medicamentos o aun cambio de estilo de vida. El uso diario y prolongado puede inducir dependencia y otros malestares intestinales. (21)

1.1.3.4 Cumarinas

Sustancias que se encuentra en muchos vegetales, siendo más abundantes cuando se secan. Se encuentra en hojas, frutas, semillas y raíces, mayormente, en las gramíneas y umbelíferas. Da un olor agradable en el espliego, la asperilla olorosa, el tabaco, etc. Algunos tipos de lactonas, se prohíbe su uso como saborizante por ser tóxico, anticoagulante y aromatizante. (32)

Ejemplos de Cumarinas con actividad biológica entre las que se pueden citar: el dicumarol anticoagulante y antibacterial, la acción antibiótica de la novobiocina, la actividad estrogénica del cumestrol, la acción fotosensibilizadora de furanocumarinas como el bergapteno y la xantotoxina, etc. (14)

Presentan una estructura básica de 2H-1-benzopiran-2-ona. Se originan por lactonización del ácido cis-O-hidroxicinámico o ácido cumarínico. Se clasifican en: Hidroxi o metoxi cumarinas, Cumarinas isoprenílicas, Piranocumarinas, Furanocumarinas. (14)(32)

1.1.3.5 Esteroles

En la naturaleza se encuentran una gran cantidad y diversidad de sustancias con el núcleo esteroide, las cuales incluyen a los esteroles o 3-hidroxiesteroides, los esteroides con grupos carbonilo también denominados oxa o cetoesteroides, los esteroides con grupos amino en el núcleo o la cadena lateral alcaloides esteroidales y los cardenólidos o cardiotónicos entre otros. Estos a su vez se les encuentra en forma libre, esterificados con ácidos grasos o glicosidados. A continuación se describen algunos aspectos generales de los esteroides más distribuidos, haciendo un énfasis especial en su elucidación estructural. (14)(32)

Los esteroles se encuentran ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal; y se les encuentra en forma libre también llamados agliconas esteroides, como ésteres o como glicósidos. Todos contienen un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno y presentan un grupo hidroxilo en el carbono 3. (14)(32)

La mayoría de esteroles naturales o esteroles insaturados poseen una cadena lateral de 8 a 10 átomos de carbono y un enlace doble en el C-5. En los animales superiores incluido el hombre se encuentra, principalmente el colesterol, el cual es un constituyente importante de membranas y precursor de sustancias fisiológicamente importantes como hormonas, ácidos biliares, vitamina D, etc. (32)

En las plantas superiores se encuentran, principalmente, los denominados fitosteroles: β -Sitosterol, ampesterol y Estigmasterol. Un esteroles menos común es el Fucosterol, el cual es el esteroide principal de muchas algas pardas y también se le ha detectado en el coco *Cocos nucifera L.* (32)

Los esteroles naturales conocidos presentan las siguientes características estructurales: Los enlaces dobles en el núcleo se presentan, principalmente, en C-5, C-7, C-8 y C-9. Los enlaces dobles en la cadena lateral se presentan, especialmente, en C-22, y con menor frecuencia en C-24 y C-25. Además de los grupos metilos 18, 19, 21, 26 y 27, es frecuente encontrar grupos metilo en C-24, menos frecuente en el C-4. La cadena lateral

presenta grupos alquilo, metilo, etilo, isopropilo, propilo, principalmente, en C-24. Algunos organismos poco evolucionados invertebrados marinos, orquídeas presentan esteroides con modificaciones en la cadena lateral anillos ciclopropano, dobles enlaces alélicos, metilaciones en C-26 y C-27, ausencia del C-25, y con núcleos modificados.(32)

1.1.3.6 Flavonoides

Son pigmentos amarillos próximos químicamente a los taninos, son derivados polihidroxilados de las estructuras básicas del 2 fenilcromano que se utilizan contra la fragilidad de los capilares, protegen frente a estados tóxicos, antiinflamatorios y colorantes, combaten alergias, agregados plaquetarios, radicales libres, microbios, virus, tumores, hipertensión, protegen el sistema circulatorio. Reducen el riesgo de varios tipos de cáncer y algunos trastornos de la vista. (16)(32)

Los flavonoides propiamente dicho pueden ser clasificados de acuerdo al estado de oxidación del anillo de pirano central en al menos 12 grupos como flavonas, flavonoles, flavanonas, dihidroflavonoles, flavan-3-oles, flavan-3-dioles, chalconas, auronas y antocianidinas. (14)

1.1.3.7 Taninos

Son compuestos fenólicos, bastante diferentes, que colorean de marrón rojizo los órganos que los contienen. Se piensa que también son productos de excreción. Algunas especies los acumulan en gran cantidad: más del 20% del extracto seco de la madera de quebracho árbol originario de América del Sur, está constituido por taninos, que se utilizan en la industria del cuero; porque los taninos tienen la propiedad de hacer imputrescibles las pieles de los animales. Se utiliza el tanino como reactivo químico, y en Medicina como astringente y como contraveneno. Los taninos, son sustancias de alto peso molecular, complejos polímeros de ácidos fenólicos, algunos contienen además azúcares. (16)(21)

Según su composición se puede clasificar como:

1.1.3.7.1 Taninos Hidrolizables

Son ésteres de un azúcar y un variable número de moléculas fenólicas. El azúcar es generalmente glucosa. El ácido fenólico puede ser ácido gálico, en caso de galotaninos, o puede ser el ácido hexahidrodifénico o su derivado oxidado el ácido dehidrohexahidrohidifenico (ácido chebúlico), en el caso de los elagitaninos. Desde 1985 muchos compuestos nuevos han sido aislados e identificados como complejos taninos, los cuales son elagitaninos modificados que resultan de la adición del fenilcromano a una molécula del éster de glucosa con el ácido hexahidrohidifenico: Flavanol (flavono-elagitanino), procianidina (procianidino-elagitanino) o flavonol (flavono-elagitanino).(21)

1.1.3.7.2 Taninos Condensados (Protoantocianidinas)

Los taninos condensados son polímeros de flavanoles. Estos consisten de unidades de flavan-3-ol unidas por enlaces carbono-carbono, principalmente 4-8 o 4-6. Estos taninos, biogénicamente, son derivados del metabolismo de los flavonoides. (21)

1.1.3.8 Mucílagos

Se componen en su mayor parte de polisacáridos pentosas y hexosas, fermentos, productos de oxidación y elementos minerales. Son insolubles en alcohol y solubles en agua dando como resultado una sustancia viscosa de aspecto gelatinosa. Poseen un amplio espectro de actuación: como antiinflamatorias, emolientes, cicatrizante, protectoras de las mucosas, antidiarréicas (baja dosis) y laxantes (altas dosis), antibióticas. En fitoterapia se emplean a modo de infusiones para resolver problemas del aparato respiratorio y como cataplasmas para aliviar los dolores producidos por traumatismos. Se encuentran en gran proporción en algas, algunos bulbos, tubérculos, plantas carnosas. Dentro de los mucílagos, se distinguen también las pectinas que se hallan en frutas y verduras. (2)(32)

1.1.3.9 Saponinas

Son glucósidos presentes en muchas plantas. Son compuestos solubles en agua, incoloros y amorfos. Forman emulsiones muy espumosas y coloideas, por lo que son empleadas para la fabricación de jabones y lejías. La solubilidad en agua de estos compuestos está facilitada por su alto peso molecular y la presencia de los residuos de monosacáridos y de otros grupos polares en la aglicona. En fitoterapia, se usan porque produce un aumento en la liberación de glóbulos rojos esto hace de ellas sustancias peligrosas, pues pueden llegar a ser tóxicas. En medicina se emplean como diuréticos, expectorantes, desinfectantes del aparato genitourinario. Plantas ricas en saponinas son el gordolobo, ginseng y saponaria, entre otras. (2)(32)

1.1.3.10 Principios Amargos

Se caracterizan por el peculiar sabor que aportan a la planta, su efecto tónico general y su actividad estimulante sobre la secreción de jugos gástricos. Se clasifican en tres grupos: puros, picantes y aromáticos. Los principios amargos estimulan el apetito y mejoran las digestiones; algunos principios aromáticos cuentan con actividad antiséptica, y los picantes, en términos generales, contribuyen a mejorar la circulación sanguínea. (2)

1.1.3.11 Vitaminas, minerales

Las plantas nos suministran catalizadores bioquímicos indispensables que nuestro cuerpo no puede sintetizar: las vitaminas. Las encontramos en mezclas equilibradas, en frutas y hortalizas frescas. El contenido de minerales raramente tiene importancia ponderal, pero actúan como oligoelementos y potencian el efecto sinérgico. (2) (16)

1.1.3.12 Heterósidos

Son compuestos formados por la asociación de un glúcido y de un cuerpo activo no azucarado, llamado genina. Se supone que las geninas son productos de excreción; por

ello serían perjudiciales para la planta; su asociación con un glúcido permite al vegetal neutralizarlas, formando compuestos no tóxicos. Muchos de los heterósidos tienen utilización en medicina. La digitalina es un potente cardiotónico y el salicósido es el precursor de la aspirina. Se clasifican los heterósidos según la naturaleza de su genina en: sulfurados, cianógenos, fenólicos, flavónicos, cumarínicos, esteróidicos, etc. (16)

1.1.4 EXTRACCIONES BOTÁNICAS

La extracción, cuando el término es usado farmacéuticamente, implica la separación de fracciones medicinalmente activas de tejidos vegetales de componentes inactivos o inertes con la ayuda del agua, alcohol, mezclas de alcohol-agua u otros disolventes apropiados. Este proceso de extracción involucra la remoción del componente deseado del material vegetal con un solvente apropiado, la evaporación de todo o casi todo el disolvente, y el ajuste de los fluidos residuales, masas o vehículos a los estándares prescritos. (11)(21)

Los métodos de extracción con disolventes pueden ser continuos y discontinuos. Los métodos continuos son la percolación y el soxhlet, en ellos el disolvente actúa en una dirección y permite la extracción prácticamente total de los principios activos de la droga. Los métodos discontinuos son la maceración, la infusión, la decocción y la digestión, y en ellos el disolvente actúa en todas las direcciones sobre la droga. (5)

Los extractos pueden ser sometidos a procesos que incrementan el contenido de constituyentes característicos, disminuye el contenido de compuestos no deseados, o ambos. Los extractos a los que no se le añaden sustancias inertes y no están sometidos a ningún proceso, excepto de la extracción, se les conoce como “extractos nativos” o “crudos”. En algunas formulaciones, el material vegetal puede ser pretratado para inactivar las enzimas y contaminantes microbianos, molido, desgrasado o a un proceso similar. (5)

1.1.4.1 Métodos de Extracción

Los dos métodos principales de producción de extractos vegetales son la percolación y la maceración. El RFE describe con detalle cada uno de ellos. (5)

1.1.4.1.1 Maceración

A menos que se especifique lo contrario, el material crudo que se va a extraer, es reducido a pedazos de tamaño apropiado, mezclando con el disolvente específico y dejado en reposo a temperatura ambiente en un recipiente en un tiempo apropiado, con frecuente agitación hasta que la materia soluble se disuelva. La mezcla se filtra, el material insoluble se lava con el mismo disolvente utilizado para la maceración y los filtrados se concentran a la consistencia deseada, bajo presión reducida y temperatura controlada. (21)

1.1.4.1.2 Percolación

En la manufactura de los extractos la percolación es el método más común. La materia cruda se reduce en pedazos de un tamaño apropiado, si es necesario luego se mezcla íntimamente con una porción con el disolvente especificado y se deja reposar por 15 min. La mezcla se transfiere a un percolador (un recipiente estrecho en forma de cono con ambos extremos abiertos) y se añade cantidad suficiente del disolvente especificado para cubrir toda la masa sólida. (11)(21)

Se deja que la droga macere 24 horas o durante el tiempo especificado. Si no se lleva a cabo ningún ensayo se deja que la percolación proceda lentamente o a la velocidad especificada agregando de forma gradual una cantidad suficiente de solvente para complementar un volumen de solución de 1000mL. (9) El percolado es concentrado, generalmente por destilación bajo presión reducida, de manera que los constituyentes de interés sean sometidos a la menor cantidad de calor posible. (21)

1.1.4.1.3 Digestión

Este proceso consiste en forma de maceración en la cual se calienta con suavidad durante el proceso de extracción. Este procedimiento se utiliza cuando una temperatura moderadamente alta no es objetable y de este modo aumenta la eficiencia del mensturo como solvente. (11)

1.1.4.1.4 Infusión

Es una solución diluida de los componentes fácilmente solubles de las drogas crudas. Las infusiones frescas se preparan macerando las drogas por un lapso breve con agua fría o en ebullición. Durante algún tiempo, los compendios oficiales de Estados Unidos no incluyeron infusiones. (11)

1.1.4.1.5 Decocción

Este proceso, antiguamente muy popular, consiste en extraer los componentes hidrosolubles y termoestables de drogas crudas hirviendo en agua durante 15 minutos; después el extracto se deja enfriar y se filtra y se pasa suficiente agua fría a través de la droga para completar el volumen requerido. (11)

1.1.4.2 Clasificación de los Extractos

Hay tres tipos de extractos: fluidos (preparaciones líquidas), blandos (de consistencia intermedia) y secos (de consistencia sólida). (5)

1.1.4.2.1 Extractos fluidos (1:1)

Los extractos fluidos, también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de material vegetal que contiene alcohol como disolvente o como preservante, o ambos, preparados de tal manera que cada mililitro contiene los constituyentes extraídos de 1 g del material crudo que representa, a menos que se especifique lo contrario en la

monografía individual. Los extractos fluidos también pueden ser preparados a partir de extractos apropiados y pueden contener antimicrobianos y otros preservantes apropiados.(21)

Los extractos fluidos farmacopéicos son preparados por percolación, generalmente después de un período de maceración. El disolvente requerido está especificado en la monografía individual. El procedimiento de manufactura más común incluye la concentración de la porción más diluida del percolado por evaporación o destilación al vacío a temperaturas por debajo de los 60°C. El tiempo de maceración y la tasa de flujo durante la percolación pueden variar para ajustar la cantidad y naturaleza del material vegetal bajo extracción, siempre y cuando la composición de los constituyentes de interés extraídos no se vea comprometida. (21)

La tasa de flujo del percolado puede ser lenta, moderada o rápida. En referencia a la extracción de 1000g del material original, a una tasa lenta, no más de 1 mL del percolado producido por minuto; a una tasa moderada entre 1 y 3mL/min y a una tasa rápida, entre 3 y 5 mL/min. Un extracto fluido que tienda a depositar sedimento puede estar viejo, se debe decantar o filtrar la porción clara, siempre y cuando el resultante líquido clarificado cumpla con los estándares farmacopéicos. (21)

1.1.4.2 Extractos semisólidos o blandos

Los extractos semisólidos, se conocen también como extractos blandos o pilulares. Estas son preparaciones que tienen consistencias entre aquellas de los extractos fluidos y los extractos pulverizados, son obtenidos por evaporación parcial del disolvente (agua, alcohol o mezcla hidroalcohólica) utilizada en la extracción. Puede tener algún antimicrobiano apropiado u otro preservante. Un extracto semisólido y extracto pulverizado obtenido a partir del mismo material son intercambiables como drogas o como suplementos, pero cada uno tiene sus ventajas. (21)

1.1.4.2.3 Extractos pulverizados o secos

Los extractos pulverizados son preparaciones sólidas con consistencia de polvo obtenidas por la evaporación del disolvente utilizado para la extracción. Puede contener sustancias apropiadas añadidas, tales como excipientes, estabilizantes y preservantes. Los extractos pulverizados estandarizados son ajustados al contenido definido de los constituyentes, utilizando materiales inertes apropiados o un extracto pulverizado del material vegetal utilizado para la preparación. Donde se requiere, se debe especificar un límite para el disolvente utilizado durante la extracción en la monografía individual. (21)

1.1.4.3 Fundamento del proceso de extracción

Como se mencionó anteriormente, consiste en la separación de una mezcla de sustancias por disolución de cada componente, sirviéndose de uno o varios disolventes, donde siempre se obtienen, por lo menos, dos componentes: la solución extraída en su disolvente (extracto y el residuo). (32)

Al embeber la droga con el líquido de extracción se disuelven primero las sustancias a las que el disolvente puede llegar sin obstáculos. Al triturar la droga se destruyen varias células donde el grado de finura creciente favorece la disolución. Las sustancias que están contenidas en la droga son lavadas y arrastradas de los fragmentos celulares por los disolventes mediante un proceso denominado “lavado celular”, simultáneamente, transcurre el proceso de difusión celular. El tiempo necesario para el equilibrio de concentraciones es, parcialmente, dependiente del tipo de droga, raíz u hoja y del grado de trituración. (32)

La extracción termina cuando se produce un equilibrio de concentraciones. Para cada extracción se necesita una droga y un líquido de extracción o disolvente que deben cumplir una serie de exigencias. La calidad del extracto vegetal depende de la calidad del material de partida. (32)

El contenido en sustancia activa de una droga viene determinado, generalmente, por factores previos a la cosecha y que pueden tener su origen en el tiempo de recolección, el lugar, el tipo de abono, suelo y factores climáticos, así como a los procesos de envejecimiento o degradación que puedan ocurrir durante el secado y almacenamiento de la droga, es por ello necesario la estabilización de los mismos. (32)

1.1.4.3.1 Extracción de sólidos con líquidos: Lixiviación

Se denomina a la separación preferencial de uno o más componentes de una mezcla sólida por disolución en un solvente líquido. En la industria farmacéutica los dos procedimientos de extracción básicos son maceración y percolación, sumamos a esto la extracción por Soxhlet. (32)

El intercambio de materia entre una fase sólida y una líquida interviene en numerosos procesos de interés químico-técnico. La disolución de materias sólidas, con o sin transformaciones químicas, constituye uno de los primeros pasos en un buen número de industrias, en las que se trata de utilizar un componente valioso presente entre los sólidos.(32)

En otros casos, la operación tiene por objeto eliminar las impurezas indeseables: lavado de materiales diversos, desimpregnación de fibras celulósicas, etc. En determinados procesos y operaciones el intercambio de materia tiene lugar de forma inversa: por paso de la fase líquida a la sólida, cristalización, adsorción, cromatografía o intercambio iónico.(32)

En el caso de la lixiviación, se trata de la disolución en un disolvente apropiado de un componente o grupo de componentes que forman parte de un sólido, el cual contiene otros componentes insolubles. Existen, por tanto, dos fases, la sólida y la disolución. Las variables son temperatura, presión y concentración de soluto en la disolución. Todas ellas variables independientes. (32)

1.1.4.3.2 Variables de la extracción sólido-líquido

Como en el estudio de otras muchas operaciones, hay que considerar aquí el equilibrio que se tiende a alcanzar durante la operación y la velocidad con que se alcanza, en función de los diversos factores que pueden afectar a uno y a otra. El conocimiento que se posee de la interfase líquido-sólido es escaso y por ello el mecanismo primario del cambio de fase de un soluto presente, inicialmente, en forma sólida, de la cual depende como es lógico, la cinética del proceso, permanece oscuro, haciendo difícil el desarrollo de una teoría general para esta operación. (32)

Los factores que influyen en el equilibrio son:

1. La naturaleza del soluto.
2. La naturaleza del disolvente.
3. La presión.
4. La temperatura.

En cambio, en la cinética del proceso, influyen además de los anteriores, la forma en que está dividido los sólidos, la presencia de restos de organización celular cuando se trata de tejidos animales o vegetales y las características propias del aparato y sistema de extracción que se emplee. (32)

1.1.5 SECADO Y ESTABILIZACIÓN DE LAS PLANTAS RECOLECTADAS

Las plantas recién recolectadas contienen una cantidad de agua importante, variable en los distintos órganos. Las semillas y frutos secos contienen el porcentaje menor, 5 a 10%, pero las cortezas contienen del 30 al 40% de agua, las hojas del 60 al 90%, según su textura, las raíces y rizomas del 70 al 85% y las flores y frutos del 80 al 90%. (16)

En medicina casera se utilizan, a veces, las plantas medicinales en estado fresco, como en jugos y cataplasmas; en la industria sirve para la preparación de alcoholaturas y la

extracción de aceites esenciales. Pero en la mayoría de los casos existe el problema de la conservación de la droga o parte útil del vegetal. (16)

La planta segada se marchita más o menos rápidamente, según la textura del órgano, la temperatura, la humedad del aire y la luz. Al principio consume sus reservas, pero la deshidratación provoca, en algunas horas o en algunos días, la muerte progresiva de las células vegetales, manifestándose entonces las degradaciones. Algunas tienen lugar por la influencia de los enzimas o fermentos de la planta; con la muerte, las células se vuelven permeables y los enzimas, localizados en ciertas células o en puntos diferentes de la misma célula, se ponen en contacto con los constituyentes contenidos en el saco vacuolar. Estos componentes sufren entonces hidrólisis u oxidaciones, frecuentemente perjudiciales a la actividad terapéutica de las plantas. Estos fenómenos enzimáticos necesitan la presencia del agua, admitiéndose que cesan prácticamente, para un contenido de aquélla inferior al 10%. (16)

Otras alteraciones se producen bajo la acción de oxígeno, del aire y de la luz. Si incluso el contenido de agua es importante, pueden proliferar sobre los vegetales ataques de bacterias y hongos. Por eso interesa eliminar, lo más rápido posible, la mayoría del agua de los órganos vegetales recolectados; no se deben jamás comprimir o meter en sacos, y menos de plástico, en estado fresco, puede provocar su fermentación. (16)

1.1.6 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA VEGETAL

Para que la droga cruda vegetal alcance la categoría de Fitomedicamento debe cumplir con una serie de exigencias que incluyen los siguientes factores:

- Contaminación de ingredientes herbarios como metales pesados y contenido de microorganismos: Las plantas medicinales que servirán como base para la preparación de Fitomedicamentos debe ser de excelente calidad y estar libre de insectos, hongos, excretas de animales, bacterias y micotoxinas, pesticidas y metales tóxicos tales como el magnesio, plomo, arsénico, mercurio y otros. (3)(60)

- Determinación de cenizas: La determinación de cenizas es importante porque nos da el porcentaje de minerales presentes en las plantas. Establece el grado de limpieza de materias primas vegetales (exceso de arena, arcilla). Da el porcentaje de impurezas minerales.
- Cenizas totales: Que es igual a la suma de las cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en agua.
- Cenizas solubles e insolubles en agua: Sirve para determinar adulteraciones en los vegetales. (3)
- Cenizas insolubles en ácidos: Las cenizas insolubles en ácido son una medida de la materia arenosa presente, estando especificados los valores máximos para las hierbas y especias. La presencia de suciedad aumenta los valores obtenidos.
- Tamizaje fitoquímico: Son pruebas preliminares sencillas y rápidas que permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos. (3)(60)

1.1.7 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO

1. Descripción del producto: Este aspecto es muy importante pues en él va implícito su transparencia, la no presencia de sedimentos así como su color y olor.
2. pH: Da la medida de la acidez o basicidad del producto expresado en forma de la concentración de hidrogeniones $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. (51)
3. Índice de refracción: El índice de refracción es una constante física que se mide con frecuencia para determinar la identidad y pureza de los líquidos transparentes.(60)
4. Peso específico: se define como la relación de la masa de una sustancia con la masa de un volumen igual de otra sustancia adoptada como la norma constante, en este caso de 25 °C. (51)

5. Sólidos totales: Se le aplica el residuo obtenido de la cantidad prescrita de la preparación cuando esta es secada a peso constante y a temperatura determinada. Nos da la medida de la cantidad de sustancia que ha sido extraída con el menstruo utilizado.
6. Análisis capilar: Es un método ingenioso e interesante para la caracterización de extractos y tinturas. Se basa en los fenómenos de absorción y de partición de sustancias y de materiales sobrantes a través de los espacios capilares del material inerte del papel de filtro y del agua que contiene la célula del mismo.(51)(60)

1.2 PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS EN LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA

1.2.1 JENGIBRE



FUENTE: SISA, J. 2011

FOTOGRAFÍA No. 1 PLANTA DE JENGIBRE, *Zingiber officinale* Roscoe.

1.2.1.1 Nomenclatura Botánica

Nombre Científico: *Zingiber officinale* Roscoe.

Nombres populares:

- Español: Jengibre, jenjibre, gengibre, ajijilla (Colombia), ajilla (Ecuador), jengibre dulce, ajengibre
- Portugués: gengibre
- Inglés: ginger
- Otros: gingembre (Franc) zenzero, gingero (Ital), ingwer (Alemán) (1) (60)

Familia: Zingiberaceae (79)

1.2.1.2 Descripción Botánica

Se trata de una planta perenne, reptante, perteneciente a la familia de las Zingiberáceas, caracterizada por presentar una altura entre 60 a 120 cm; rizoma tuberoso y grueso; hojas envainantes lanceoladas de 15 a 30 cm de longitud; flores verdosas con manchas púrpuras dispuestas en espigas radicales de hasta 7 cm de largo, con pedúnculos de 30 cm de largo. Algunos tallos son estériles y no presentan flores, sirviendo únicamente para asimilación. El fruto es de forma capsular aunque rara vez el jengibre fructifica. (1)

Un corte transversal de los rizomas muestra que consta de tres partes esenciales, corcho, región cortical y cilindro central. Las capas de corcho son producidas en la epidermis y forman de cuatro a ocho estratos de células de parénquima, alargadas en sentido tangencial, que se renuevan constantemente y le dan el aspecto seco y corchoso característico, esta capa debe removerse al preparar el producto comercial. (45)

La región cortical está constituida por parénquima, de color grisáceo oscuro y contiene abundante número de células con oleorresinas, y haces vasculares. El cilindro central es amarillento y se encuentra separado del anterior por una banda más clara, la endodermis, está constituido por parénquima rico en almidón, también contiene abundante oleorresina. (45)

1.2.1.3 Hábitat

El jengibre es originario de Asia tropical, en especial de la región comprendida entre India y China, no habiéndose conocido en estado salvaje y su cultivo es muy antiguo. La palabra jengibre deriva del sanscrito y significa "corniforme". Posteriormente fue introducido ampliamente en el resto de las regiones, creciendo en terrenos arcillosos y bien drenados, hasta los 1.500 metros de altitud. Actualmente es cultivado en India, extremo Oriente y regiones tropicales de Australia, Nigeria, Dahomey, Sierra Leona, Jamaica e Indonesia. En Argentina se cultiva en las provincias de Chaco, Salta, Misiones, Tucumán y Corrientes. En Brasil se aclimatado muy bien y se cultiva en regiones con suelos arenosos, fértiles y con buen drenaje. En América se cultiva en regiones tropicales y subtropicales, de clima caliente y húmedo a pleno sol. (1)(10)(45)

1.2.1.4 Parte utilizada

Los rizomas se recolectan antes de que se formen nuevos retoños pues los rizomas viejos pierden sus propiedades terapéuticas. Se lavan, se raspan y se pone a secar al sol. (9)

Rizoma secado y molido, el cual presenta un sabor picante, pungente y olor aromático característico; color internamente amarillo pálido a pardo. Este rizoma seco es el doble de picante que el fresco ya que el proceso de desecado permite la descomposición de los gingeroles. (1)(78)

1.2.1.5 Composición Química

1.2.1.5.1 Aceite esencial de la oleoresina (0,50-3%)

Compuesto por monoterpenos: canfeno (8%), α -pineno (2,5%), cineol, citral, borneol, mirceno, limoneno, felandreno; sesquiterpenos: α - anforfeno, β -cariofileno, β -elemeno, β -ilangeno, calameneno, capaeno, ciclocopacanfeno, ciclosafireno, cis- γ -bisaboleno, selina-zonareno, germacraneno B, Sesquifelandreno, trans- β -farneseno, zingibereno, bisaboleno; alcoholes sesquiterpénicos: nerolidol, elemol, bisabolol, sesquisabineno,

trans- β -sesquifelandrol, zingiberenol, β -eudesmol. Otros: hidrocarburos (undecano, hexadecano, dodecano, folueno, p-cimeno, etc), alcoholes alifáticos (2-butanol, 2-heptanol, 2-nonanol), aldehídos alifáticos (butanal, 2-metil-butanal, 3-metil-butanal, pentanal), cetonas (acetona, 2-hexanona, 2-novanona, heptanona, criptona, carvotanacetona, metil-heptanona), aldehídos monoterpénicos (citronelal, mirtenal, felandral, neral, geranial). (1)

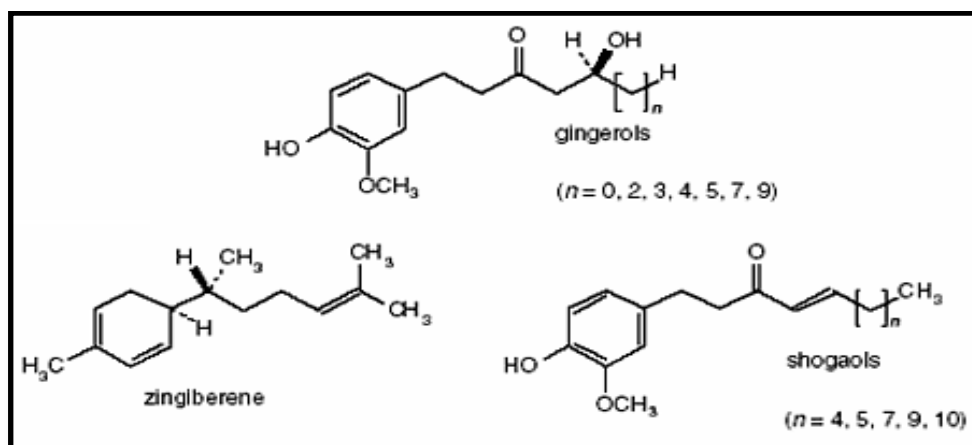
Un estudio sensorial completado en 1975 puso de manifiesto que el β -sesquifelandreno y el arcurcumeno eran los principales responsables del aroma a jengibre, mientras que el α -terpineol y el citral causan el aroma a limón. (45)

1.2.1.5.2 Principios picantes

Presentes en la fracción resinosa (5-8%) entre los que destacan: gingerdiones, gingeroles: (6)-gingerol, (8)-gingerol, (10)-gingerol (en la raíz fresca), con una concentración del 33%, originando por desecación: zingerona, zingibereno, (6)-sogaol, (8)-sogaol y (10)-sogaol (los cuales caracterizan por ser menos picantes). (1)

Las sustancias picantes son los gingeroles y sogaoles. Se trata de fenilalcanonas o fenilalcanonoles no volátiles con cadenas de diferentes longitudes, siendo los más importantes el (6)-gingerol y el (6)-sogaol. El rizoma de jengibre también contiene diarilheptanoides: difenilheptenonas, difenilheptanonoles, difenilheptanodiones y sus acetatos. (78)

Otros una enzima (zingibaina), Almidón (50%), ácido fosfatídico, lecitina, proteínas, vitaminas, minerales, diterpenos, ácido 6-gingesulfónico y monoacil digalactosil gliceroles. (1)(67)(78)



FUENTE: WAGNER, H; BLADT, S. 1996.

FIGURA No. 1 PRINCIPIOS ACTIVOS (*Zingiber officinale Roscoe*)

1.2.1.6 Composición alimentaria

Por 100 g contiene calorías 61; proteínas 2,5 gramos; grasas totales 0,8g; hidratos de carbono 11g; agua 81,5g; sodio 34mg; potasio 910mg, fósforo 140mg, magnesio 130mg; hierro 17mg. (1)

1.2.1.7 Acciones Farmacológicas

Se han realizado estudios de animales, *in vitro* y en humanos. Destacan en el jengibre sus cualidades antieméticas, antiinflamatorias, antimicrobianas y coadyuvantes de procesos diabéticos. (1)

Actividad antiemética: Atribuida principalmente a un efecto local sobre el tracto gastrointestinal de los gingeroles y sogaols. Estudios clínicos han demostrado que la administración oral de polvo de raíz de jengibre (940 mg) fue más efectiva que el dimenhidrinato (100 mg) en la prevención de los síntomas gastrointestinales de la cinetosis (mareo locomocional). Los resultados de este estudio sugieren que no actúa sobre el sistema nervioso central, pero tiene un efecto directo sobre el tracto gastrointestinal, por medio de sus propiedades aromáticas, carminativas y absorbentes, aumentando la motilidad gástrica y adsorbiendo toxinas y ácidos. (1)(78)

Actividad digestiva: Estimulante de la secreción gástrica, salival, biliar y de lipasas pancreáticas y disacararas. La administración intraduodenal de extractos de jengibre a ratas, aumentó la secreción biliar por 3 horas. Esta actividad es causada por los (6)- y (10)-gingerolos contenidos en el aceite esencial de jengibre. (78)

Actividad antiulcerosa: Por inhibición de la reducción del grosor de la capa del epitelio gastrointestinal. Estudios realizados en ratas con lesiones ulcerosas inducidas por etanol, encontrándose resultados inhibitorios de lesión cercanos al 97,5% con dosis de 1 g/Kg de extractos totales. En tal sentido se ha visto como más efectivo el extracto acetónico respecto al etanólico, en tanto los diarilheptanoides, uno de los principales componentes activos, sería útiles como preventivos de las úlceras inducidas por estrés. (1)(78)

Actividad Antiagregante: En un estudio realizado en India sobre 20 pacientes voluntarios, la administración de 5 g diarios de polvo de jengibre tomados durante una semana, provocaban un significativo descenso de la adhesividad plaquetaria, evidenciándose paralelamente un descenso en la enzima tromboxanosintetasa. Estudios Preliminares *in vitro* con el extracto acuoso habían evidenciado una respuesta antiagregante de tipo dosis dependiente con inhibición de la actividad de la ciclo-oxigenasa plaquetaria. El gingerol y los diarilheptanoides gingerdiona y dihidrogingerdiona han sido señalados como los principios activos con actividad inhibitoria de la síntesis de prostaglandinas y de la agregación plaquetaria. (1)

Actividad antiinflamatoria-Antipirética: El Extracto alcohólico del rizoma de jengibre demostró en animales de laboratorio, actividad antiinflamatoria y antipirética similar al ácido acetil salicílico. Se postuló en este sentido una acción inhibitoria de los gingeroles sobre la lipooxigenasa. (1)(78)

Tanto el gingerol como la gingerdiona y la dihidrogingerdiona han sido reportados como potentes agentes inhibitorios de la biosíntesis de las prostaglandinas *in vitro*, con una eficacia superior a la indometacina. (1)

Uno de los mecanismos de la inflamación es el incremento de la oxigenación del ácido araquidónico, que es metabolizado por la ciclooxigenasa y la 5-lipoxigenasa, produciendo prostaglandina E₂ y leucotrieno B₄, dos potentes mediadores de la inflamación. Estudios *in vitro* han demostrado que extractos de jengibre inhiben las actividades de ambas enzimas en la cascada del ácido araquidónico, por lo tanto, sus efectos antiinflamatorios pueden ser debidos a la disminución de la formación de prostaglandinas y leucotrienos. (78)

El jengibre también es un potente inhibidor de la tromboxanosintetasa e incrementa los niveles de prostaciclina sin aumento concomitante de las prostaglandinas E₂ o F₂á. (78)

Estudios *in vivo* han demostrado que la administración oral de extractos de jengibre disminuyeron el edema de la pata de rata. El (6)-Shogaol inhibió el edema de pata de rata inducido por carragenina inhibiendo la actividad de la ciclooxigenasa. (78)

Un estudio en China reportó que 113 pacientes con dolor reumático y lumbalgia crónica, a quienes se inyectó un extracto con 5–10% de jengibre en los puntos dolorosos, experimentaron alivio total o parcial del dolor, disminución de la inflamación articular y mejoría o recuperación de la función articular. La administración oral de polvo de jengibre a pacientes con reumatismo u otras alteraciones musculoesqueléticas ha reportado alivio del dolor y la inflamación. (78)

Actividad Antioxidante: El Extracto etanólico y metanólico de la raíz de Jengibre han demostrado poseer una fuerte actividad antioxidante. De igual manera ratas alimentadas con Jengibre evidenciaron una disminución de la peroxidación lipídica, con aumento de la actividad de enzimas antirradicales como la superóxidodismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa. Esta actividad demostró ser similar a la evidenciada por 100mg/Kg de ácido ascórbico. Entre los compuestos antioxidantes del jengibre tendrían injerencia glucósidos precursores o intermediarios del (6)-gingerdiol. (1)

1.2.1.8 Farmacocinética

La administración de un bolus intravenoso de 3 mg/Kg de (6)-gingerol en ratas ha demostrado tener una vida media de 7,23 minutos y un clearance corporal total de 16,8 mL/min/Kg. Los efectos farmacológicos son mantenidos durante algo más de 180 minutos posteriores a la administración. (1)

1.2.1.9 Toxicología, efectos adversos y contraindicaciones

No tomar dosis diarias de extracto de polvo superiores a 2 g. Dosis superiores de unos 6g diarios pueden producir úlcera o gastritis. Puede interactuar con ciertos medicamentos anticoagulantes como la heparina o interferir con la absorción de ciertas vitaminas, como el hierro. Debido a la actividad cardiotónico y antiagregante plaquetaria (*in vitro*) e hipoglucemiante (*in vivo*) del jengibre, se recomienda no administrar altas dosis ya que pueden interferir con la medicación de base en pacientes con insuficiencia cardíaca, coagulopatías y diabetes. (1)(47)

A veces, su utilización puede producir exceso de acidez gástrica. El aceite esencial no debe ingerirse en afecciones graves del aparato digestivo como úlceras, gastritis, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn o síndrome del intestino irritable. (1)(47)

Tampoco debe ser administrado ante enfermedades de tipo neurológico o personas que posean o sean propensas a cálculos biliares o con niños pequeños. La planta completa no debe utilizarse por sus propiedades hepatotóxicas. Externamente, la utilización del aceite esencial no debe aplicarse en personas que posean alergia respiratoria. (1)(47)(78)

El riesgo de que ocurran malformaciones graves en los infantes de las mujeres que toman jengibre no parece ser superior al 1% a 3 % que existe habitualmente. Como todo medicamento que se usa durante el embarazo, es importante valorar el beneficio que puede ofrecer el medicamento contra el potencial de riesgo para el feto. (46)

1.2.1.10 Formas Galénicas

Decocción: 3g/taza (hirviendo 5 minutos e infundiendo 15 minutos). Dos o tres tazas diarias. Según los trabajos Tramil de la Farmacopea Caribeña, la decocción es de 15g/L, administrándose 120-240mL, 3-4 veces al día. (1)

Extracto Fluido: En relación (1:1), se recomienda la toma de 25 gotas, 2-3 veces al día, antes de las comidas. (1)

Tintura: En relación (1:5), en 90% de etanol, se administran 50 gotas, 1-3 veces al día. Según la Farmacopea de Brasil, la tintura fuerte lleva una relación 1:2, en 90% de etanol, administrándose 0,25-0,50mL. (1)

Extracto seco: (5:1) a razón de 200 a 1000 mg diarios repartidos en 3-4 tomas. Como preventivo de náuseas o mareos del viajero, es muy recomendada la toma de una cápsula de 0,6-1g, media hora antes de emprender un viaje. (1)

Aceite Esencial: 1-3 gotas, 2 veces al día, sobre un terrón de azúcar si se prefiere. También se lo combina (5-10gotas) con aceite de almendras (25mL) en forma de friegas sobre zonas doloridas. (1)

Polvo del rizoma: En forma de cápsulas para uso oral, recomendándose hasta 2,5g diarios, repartidos en 3 tomas. (1)(48)

Uso tópico: Para ello se emplea la decocción al 5% para ser aplicada en forma de gargarismos o compresas. También la tintura (1:5) en forma de fricciones o diluida al 5% como colutorio. (1)

1.2.2 ROMERO



FUENTE: ESTRADA, S. 2010.

FOTOGRAFÍA No. 2 PLANTA DE ROMERO, *Rosmarinus officinalis* L.

1.2.2.1 Nomenclatura Botánica

Nombre científico: *Rosmarinus officinalis* L.

Nombres populares:

- Español: Romero
- Portugués: alecrim, rosmarinho
- Inglés: rosemary
- Otros: romarin, rose marin, incensier (Francés), rosmarino, ramerino (Italiano), Rosmarin, Kranzenkraut (Alemán). (1)(63)

Familia: Lamiaceae (62)

1.2.2.2 Descripción Botánica

Arbusto siempre verde, aromático perenne, perteneciente a la familia de las Labiadas (Lamiáceas), caracterizado por presentar una altura cercana al metro (aunque existe pocos ejemplares que puede alcanzar los dos), los tallos son ramificados; ramas jóvenes pubescentes que se tornan leñosos al madurar; hojas simples, opuestas, sésiles, lineares y coriáceas, de hasta 3,5 cm de longitud, de color verde oscuro brillante en el haz,

blanquecino tomentoso en el envés, punteado glandular y un nervadura media prominente, borde revoluto. (1)(63)

Las flores pequeñas bilabiadas de color azulado (rara vez rosadas), agrupadas en densos ramos axilares o terminales, haciendo su aparición desde fines de primavera hasta principios del verano. (1)

Olor aromático característico; sabor aromático picante, canforáceo y amargo. Es una planta melífera. Sus flores son muy visitadas por las abejas y su largo período de floración la hacen recomendable para lugares donde haya colmenares. El fruto es un tetraquenio brillante de color marrón. (1)(63)

1.2.2.3 Hábitat

El romero es originario de la zona correspondiente al Mediterráneo, sur de Europa, norte de África. Incluso se encuentra también en Asia Menor y Suramérica, creciendo silvestre sobre todo tipo de sustratos, en matorrales o alledaño a las costas, hasta una altura cercana a los 2800 metros s.n.m. Se cultiva por lo general con fines comestibles u ornamentales, no tolerando muy bien las heladas. Los principales productores son España, Túnez, Marruecos y en menor medida ex-Yugoslavia, Portugal, Turquía e India. (1)(62)(63)

1.2.2.4 Parte utilizada

La droga está constituida, por la hoja y en menor medida por las sumidades floridas. Ocasionalmente se emplean el tallo y las flores. (1)(9)

1.2.2.5 Composición Química

La composición del aceite esencial de romero puede variar significativamente, en función de distintos factores como la parte de la planta recolectada, el grado de desarrollo de la planta en el momento de la recolección o la procedencia geográfica, entre otros. (2)(40)

1.2.2.5.1 Aceite Esencial (0,5-2%)

Compuesto principalmente por hidrocarburos monoterpénicos tales como el α -pineno (25%), β -pineno, canfeno, mirceno y limoneno; ésteres terpénicos (1,8-cineol en una concentración variable del 12-50%); alcanfor (10-25%), linalol, verbinol, terpineol, 3-octanona, isobornil-acetato, β -cariofileno, etc. (1)(40)(64)

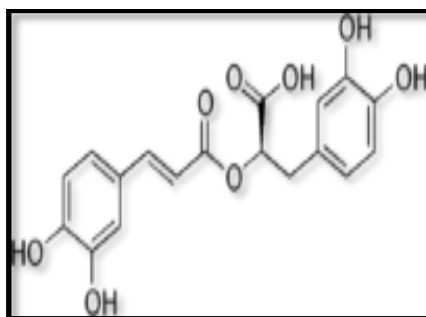
1.2.2.5.2 Terpenoides

Las hojas de romero también contienen principios amargos, constituidos por Carnosol o picrosalvina (diterpeno amargo), ácido oleánico, ácido 2- β -HO-oleanólico, ácido 3-O-acetiloleanólico, ácido ursólico y ácido 3-O-acetilursólico (triterpenos), ácido carnosílico, rosmaridienol, 7-metoxirosmarol, α y β -amirenona, etc. (1)(40)

1.2.2.5.3 Flavonoides

Apigenina, diosmetina, diosmina, genkwanina, glucósidos de genkwanol, 6-metoxigenkwanina, hispidulina, luteolina (y derivados), 6-metoxi-homoplantagina, cirsimarina, nepritina, sinensetina, cupafolina, 7-metoxi-fegopolina. (1)(65)

Otros: ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, labiático, neoclorogénico, rosmarínico y derivados del ácido cinámico), colina, taraxasterol, lupeol, estigmasterol, campesterol, taninos. (1)(40)(64)



FUENTE: WAGNER, H; BLADT, S. 1996

FIGURA No. 2 ÁCIDO ROSMARÍNICO (*Rosmarinus officinalis* L.)

1.2.2.6 Acciones Farmacológicas

Relacionadas en su mayoría a la actividad del aceite esencial y sus compuestos fenólicos antioxidantes, responsables de la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antiulcerogénica y antimutagénica. (1)

Del romero se utilizan sobre todo las hojas y a veces, las flores. Con el aceite esencial que se extrae directamente de las hojas, se prepara alcohol de romero, que se utiliza para prevenir las úlceras. También se emplea para tratar dolores reumáticos y lumbalgias. Se utiliza en fricciones como estimulante del cuero cabelludo (alopecia). (41)

La infusión de hojas de romero alivia la tos y es buena para el hígado y para atacar los espasmos intestinales. Debe tomarse antes o después de las comidas. El humo de romero sirve como tratamiento para el asma. El alcanfor de romero tiene efecto hipertensor (sube la tensión) y tonifica la circulación sanguínea. Por sus propiedades antisépticas, se puede aplicar por decocción sobre llagas y heridas como cicatrizante. También posee una ligera cualidad emenagoga (regular la menstruación). (41)

El efecto favorable que ejerce en la digestión se produce al actuar sobre varios niveles. En primer lugar, estimula la producción de los jugos gastrointestinales. Además relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones. Al relajar las cardias, tiene un efecto carminativo y colagogo, gracias a la relajación del esfínter de Oddi. Su actividad colagoga, colerética y protectora hepática, así como su efecto diurético se ha observado en ratas y cobayas (debido a las sustancias amargas y polifenoles). (9)(40)

Los estudios sobre la actividad farmacológica de los componentes del romero que se están llevando a cabo en la actualidad se dirigen mayoritariamente hacia los diterpenos (especialmente el rosmanol), por el gran interés que suscitan sus propiedades antioxidantes. (40)

De hecho, si se tiene en cuenta que los diterpenos que contiene el romero se biosintetizan en las plantas, como respuesta al estrés oxidativo, para ejercer un efecto protector de las membranas celulares de los vegetales, no es de extrañar que ejerzan un potente efecto antioxidante y captador de radicales libres. De todos modos, se ha comprobado que tanto estos componentes aislados como los extractos de la droga poseen esta actividad. Además, se ha observado que inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el envejecimiento de la piel causado por fenómenos de oxidación. (40)

Algunos trabajos recientes indican que el carnosol promueve la síntesis de un factor de crecimiento neuronal, imprescindible para el crecimiento y mantenimiento del tejido nervioso. También se ha demostrado en ratas que el extracto hidroalcohólico de la planta tiene una actividad antiulcerosa, efecto que algunos investigadores atribuyen a los componentes antioxidantes que contiene. (40)

Indicado en casos de agotamiento nervioso, astenia, convalecencias, alteraciones digestivas y hepáticas, reumatismo, gota, jaquecas, etc. (65)

Actividad antiinflamatoria-Antioxidante. El ácido rosmarínico presenta actividad antiinflamatoria en modelos de edema plantar inducido por carragenina en ratas. Experimentalmente, dicho ácido demostró actuar sobre la formación de prostaglandinas (PGE_2), de manera similar a la de los antiinflamatorios no esteroideos, provocando a su vez inhibición del factor C3 del complemento, un mediador del proceso inflamatorio no involucrando la vía de la ciclooxigenasa ni la actividad de la prostaciclín-sintetasa.(1)(40)

Asimismo demostró reducir la producción de leucotrieno B_4 en leucocitos polimorfonucleares humanos. Por otra parte, el ácido rosmarínico demostró poseer actividad antioxidante en los tests de inhibición de la quimioluminiscencia y formación de peróxidos hidrogenados, formados a partir de granulocitos humanos. (1)(40)

Existirían más de 20 compuestos antioxidantes en el romero entre ellos el ácido carnósico, carnosol, rosmanol y epirosmanol, los cuales inhiben la formación de aniones superóxido y la peroxidación lipídica. Recordar que los radicales libres también

participan del mecanismo antiinflamatorio. El efecto antioxidante del romero demostró ser superior al del α -tocoferol, y se incrementa cuando se adiciona ascorbil palmitato y ácido cítrico. (1)

1.2.2.7. Contraindicaciones

El romero ha sido señalado como agente abortivo, por lo que se contraindica durante el embarazo. Estudios realizados sobre ratas gestantes indican que la administración de extractos de romero durante el período de pre-implantación interfiere con el normal implante del huevo, a partir de alteraciones en el desarrollo embrionario observados tras la autopsia de los animales. El romero no debe usarse en el transcurso del embarazo, ya que existe la posibilidad de que induzca un aborto espontáneo por su posible efecto estrogénico. (1)(40)

Se contraindica la toma de aceite esencial de romero en pacientes epilépticos (por peligro de neurotoxicidad), diabéticos, niños y lactante. Por este motivo, no se recomienda su uso durante períodos de tiempo prolongados o a dosis mayores a las recomendadas y se debe tener especial cuidado cuando se usa en niños. (1)(40)

Se considera que el principio activo del romero carece de toxicidad; sin embargo, las personas especialmente sensibles pueden experimentar reacciones alérgicas, especialmente dermatitis por contacto. Asimismo, no es recomendable que las personas con cálculos biliares recurran a esta droga sin consultar previamente con un médico. Esto es debido a que cuando existe litiasis biliar, un aumento del drenaje de la vesícula biliar puede ir acompañado de una obstrucción de los conductos biliares. (2)(40)

Finalmente, aunque la probabilidad de presentar una intoxicación por el consumo de infusiones de romero es muy baja, una sobredosis podría derivar en un cuadro caracterizado por espasmo abdominal, vómitos, gastroenteritis, hemorragia uterina e irritación renal. (39)

1.2.2.8 Formas Galénicas

Infusión: De la sumidad florida al 2 a 4%, se deja infundir 10-15 min y se filtra, administrándose tres veces al día, preferiblemente después de las comidas. (1)(40)

Extracto seco: Relación 8:1, se administra en base a 0,3-1 g diario, repartido en 2-3 tomas.

Extracto Fluido: Relación 1:1 en 45% de alcohol, se administra a razón de 2-4 mL diarios, repartidos en varias tomas. (1)

Tintura: Relación 1:5 g/mL. Se recomiendan 10 mL, 3 veces al día. En casos de elaborar la tintura en relación 1:8, en etanol de 35%, se administran 3-5 mL /dosis. (1)

Aceite Esencial: Se suele administrar en forma de cápsulas de 50 mg cada uno, con una dosis de 100-150 mg diarios. Administrándose 3-4 gotas, 3 veces al día, en un terrón de azúcar. (1)(40)

Vía Externa: En aplicación tópica al 5% bajo solución oleosa o alcohólica, es empleado como repelente de insectos y antineurálgico. También se emplea en fórmulas capilares junto a la ortiga para evitar la caída de pelo. (1)(63)

Modo de empleo en fricciones con la esencia diluida en alcohol al 2%. En debilidad y fatiga, utilizar en baños junto con otras esencias: mente, melisa, tomillo, etc. (62)

Otros usos: las hojas son empleadas en cocina para aromatizar carnes y guisos y en la elaboración de mezclas para el agua de baño. (1)(41)

El romero también se emplea en la elaboración de licores, como el Benedictino, con propiedades benéficas para la función estomacal. Por su parte las propiedades aromatizantes del aceite hace que sea muy usado por la industria cosmética, como así también en la elaboración de insecticidas y detergentes. Sus propiedades antioxidantes son aprovechadas en la industria de los embutidos. (1)(41)

De sus hojas se obtiene el "agua de la reina de Hungría", para perfumería y también un agua destilada que se utiliza como colirio, la esencia puede usarse para combatir dolores reumáticos. (41)

1.2.3 TOMILLO



FUENTE: ESTRADA, S. 2010.

FUENTE FOTOGRAFÍA No. 3 PLANTA DE TOMILLO, *Thymus vulgaris L.*

1.2.3.1 Nomenclatura Botánica

Nombre Científico: *Thymus vulgaris L*

Nombres populares

- Español: Tomillo, Tomillo de jardín, tremoncillo, carrasquilla.
- Portugués: Tomilho
- Inglés: Thyme
- Otros: Timo (Italiano), thymvrai (Francés), EchterThymian (Alemán) (1)(71)

Familia: Lamiaceae (70)

1.2.3.2 Descripción Botánica

Se trata de un subarbusto aromático y perenne, perteneciente a la familia de las Labiadas (Lamiáceas) caracterizado por presentar una altura variable entre 10 y 40 cm; tallos leñosos tortuosos, muy ramificados y grisáceos; hojas pequeñas opuestas, verdegrisáceas, enteras, lineares o elípticas, de hasta de 15mm de largo, con envés tomentoso; flores pequeñas bilabiadas de color lila o blanco, dispuestas en inflorescencia terminales densas o laxas, que hacen su aparición desde principios de verano hasta finales de otoño. El fruto es un aquenio ovoide liso. Tiene un penetrante olor aromático. (1)(70)(71)

1.2.3 3 Hábitat

El tomillo es oriundo de la región mediterránea occidental, en especial del sur de Italia, siendo posteriormente distribuido en prácticamente todas las regiones. Crece silvestre en matorrales secos, suelos rocosos pero bien drenados y soleados, hasta una altura cercana a los 2500m s.n.m; desde el norte de China hasta la península Arábiga, alcanzando zonas de África oriental (Etiopía). Se puede cultivar en climas templados y cálidos. (1)(72)

Se cultiva extensamente en casi todos los países como planta aromática culinaria (en especial en el sur de Francia, España, Marruecos y Norteamérica). En Argentina se cultiva principalmente en el noroeste, San Luis, Córdoba y noroeste de la provincia de Buenos Aires. (1)

1.2.3.4 Parte utilizada

Sumidad florida seca (el tallo con las brácteas y flores). El olor es aromático intenso y característico, fuerte, penetrante; en tanto el sabor también es aromático y ligeramente picante, canforáceo, muy pronunciado. (1)(71)

1.2.3.5 Composición Química

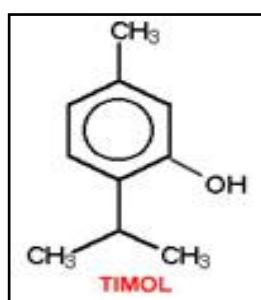
1.2.3.5.1 Aceite Esencial (0,8-2,5%)

Está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos como timol (40%), p-cimeno (15-50%), alcanfor (11-16%), carvacrol (2,5-14,6%), linalol (4%), 1,8-cineol (3%), γ -terpineno (1-5%), borneol, acetato de bornilo, acetato de linalilo, geraniol, α β -pineno, limoneno, α -terpineol, β -cariofileno, β -terpineol, γ -cadineno, verbenona, tuyen-4-ol, etc.(1)(39)(53)

No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiotipos, tanto de *T. vulgaris* como de *T. zygis*. Por este motivo, la Farmacopea

Francesa exige que la esencia tenga un mínimo del 30% de fenoles totales. Entre ellos, los principales son el timol y el carvacrol. (53)

Existe 7-quimiotipos diferentes. Los más corrientes son aquellos en que predominan el timol, carvacrol o linalol, aunque existe tomillos donde los componentes mayoritarios son el geraniol, acetato de geraniol, acetato de terpenilo o tuyen-4-ol. (1)(39)



FUENTE: LOCK, O. 1994

FIGURA No. 3 TIMOL (*Thymus vulgaris* L.)

1.2.3.5.2 Flavonoides

Principalmente heterósidos del luteol y apigenol, y en menor medida flavonas metoxiladas: cosmosiína, timonina, isotimonina, 8-dimetil-timonina, timusina, naringenina, eriodictiol, cirsimaritina, xantomicrool, 5-desmetilnobiletina, 5-desmetilsinensetina, sideritoflavona, cirsilineol y 8-metoxi-cirsilineol. También se ha señalado la presencia de flavanonas, flavonoles y heterósidos de luteolina. (1)(53)

Otros: Taninos (7-10%), serpilina (principio amargo), saponinas ácidas y neutras, ácidos labiático, oleanólico y ursólico (1,5%), ácidos fenilcarboxílicos (clorogénico y cafeico), ácido rosmarínico (<1%), ácido litospérmico, resinas, taninos. (1)(39)(53)

1.2.3.6 Análisis Proximal por 100 g de hojas frescas

Calorías (276); agua (7,8 g); proteínas (9,1 g); grasas (7,4 g); carbohidratos (63,9 g); fibra (18,6 g); cenizas (11,7 g); calcio (1.890 mg); fósforo (201 mg); hierro (123 mg);

sodio (55 mg); potasio (814 mg); carotenos (2.260 μg); tiamina (0,5 mg); niacina (4,9 mg). Las semillas contienen proteína (28,2g) y grasas (38,9g). (1)(53)(73)

1.2.3.7 Acciones Farmacológicas

En caso del tomillo es ilustrativo a la hora de especificar su actividad biológica respecto a la especie botánica seleccionada, ya que la composición fitoquímica puede variar enormemente de un ejemplar al otro. Las principales propiedades terapéuticas del tomillo están en relación a la composición fenólica del aceite esencial desarrollando actividad antitusiva, expectorante, antimicrobiana, antioxidante y antiespasmódica. (1)

Actividad antiespasmódica y expectorante: El tomillo presenta actividad espasmolítica en las vías respiratorias y ejerce un efecto relajante del músculo liso bronquial que justifica su uso como antitusivo. La acción antiespasmódica se debe al timol y al carvacrol del aceite esencial, que se cree tienen la capacidad de inhibir la disponibilidad del calcio, con lo que podrían bloquear la conducción nerviosa. Por otro lado, se ha comprobado que la acción de los flavonoides derivados del luteolol potencia la acción espasmolítica de los fenoles, actuando sobre todo en la tráquea, gracias a una inhibición de la fosfodiesterasa, seguida de un incremento del nivel intracelular del AMPc. De hecho, estos flavonoides (flavonas metoxiladas) serían los principales causantes de la actividad de los extractos fluidos de tomillo, cuyo contenido en timol y carvacrol suele ser muy bajo. (53)

Es un excelente remedio para la falta de aire. Se utiliza para procurar la mejoría en catarro, gripe, faringitis, tos irritativa, amigdalitis, bronquitis, asma, enfisema. (72)

Actividad antiséptica: La esencia de tomillo tiene un efecto antiséptico superior al del fenol y al del agua oxigenada. De hecho, en el siglo XIX y primera mitad del XX, cuando todavía no se conocían los antibióticos, el tomillo era considerado como un eficaz desinfectante. Actualmente, está comprobado que sus componentes fenólicos, timol y carvacrol, tienen actividad antibacteriana frente a gérmenes grampositivos y

gramnegativos. Este efecto se debe a su acción sobre la membrana bacteriana. Además, también tienen acción antifúngica (eficaz contra *Candida albicans*) y antivírica. (53)

Por su actividad antiséptica, el tomillo también tiene interés como antiséptico urinario, y de la cavidad bucofaríngea, así como para el lavado de heridas. La acción antibacteriana del tomillo se ve potenciada por la capacidad que tiene de producir una estimulación de la leucopoyesis y una elevación de los valores de trombocitos en la sangre, por lo que también se considera que puede ser interesante su uso como potenciador de la acción de otros inmuno estimulantes. (39)(53)

Antihelmíntico: Es especialmente activo frente a *Ankylostoma duodenale*. El timol y carvacrol tiene acción antimicótica, efectiva frente a la *Candida albicans*. Por otra parte, el extracto acuoso de tomillo inhibe de forma significativa, *in vitro*, el crecimiento del *Helicobacter pylori* y su potente actividad ureasa. (39)(53)

Actividad eupéptica: Popularmente, al igual que otros fármacos con aceite esencial, el tomillo se emplea como aperitivo, digestivo y carminativo, ya que abre el apetito, favorece la digestión e impide la formación de gases. (53)

Actividad antioxidante: Tiene acción antirradicalar, en la que se consideran implicados el timol y el carvacrol de la esencia, así como los flavonoides y otros polifenoles.(39)(53)

Actividad estrogénica: Tiene un efecto débilmente estrogénico, ya que compite con el estradiol en los receptores intracelulares. Por esta acción algunos autores sugieren su posible interés en la prevención de enfermedades producidas por un exceso de xenoestrógenos, como es el caso del cáncer de mama. (53)

Actividad Antiinflamatoria-Analgésica: En aplicación tópica, el aceite esencial es rubefaciente. Además, especialmente el carvacrol tiene una acción inhibidora de la biosíntesis de prostaglandinas. Ello justifica la inclusión de la esencia de tomillo en linimentos y otros preparados para el tratamiento de dolores musculares y

osteoarticulares. El ácido rosmarínico, también tiene acción antiinflamatoria, debido a su capacidad de inhibir la activación del complemento.(39)(53)

El extracto etanólico de tomillo ensayado *in vivo* sobre ratas, exhiben actividad antiinflamatoria y analgésica. Las mismas estarían relacionadas con la presencia de carvacrol y el timol, los cuales demostraron inhibición sobre la enzima ciclooxigenasa en modelos de animales, como así también inhibición de la vía del complemento e inhibición de la producción de óxido nítrico. En aplicación tópica, el aceite esencial de tomillo es rubefaciente, generando una sensación analgésica útil en casos de golpes o esguinces. (1)

El extracto metanólico de tomillo no ha demostrado en ratones actividad antiinflamatoria en el edema auricular bajo inducción con acetato de tetradecanoil-forbol. Un reciente estudio efectuado sobre el nervio ciático aislado de ratas, demostró el efecto analgésico del timol al alterar la excitabilidad neuronal luego de ser aplicado durante 180 minutos en concentraciones de 60-300mg. (1)

Actividad Antioxidante: El ácido rosmarínico, junto a los derivados hidroxicinámicos y compuestos flavonoides como el eriodictiol, demostraron proporcionar una interesante actividad antiinflamatoria *in vitro* inhibiendo la producción de aniones superóxido y la peroxidación lipídica en sistemas microsomales y mitocondriales bajo inducción de hierro. (1)(39)

De igual modo el timol presente en el aceite esencial, demostró actividad antioxidante *in vitro* al neutralizar el radical DPPH (Difenil Picrilhidrazilo). Ratas añosas alimentadas con aceite esencial de tomillo como parte de una dieta diaria desde jóvenes, demostraron índices elevados de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, tanto en hígado como corazón, respecto al grupo control. (1)

1.2.3.8 Contraindicaciones

El aceite esencial no debe ser empleado durante el curso de las úlceras gastro duodenales y debe emplearse con precaución durante el embarazo y la lactancia. Tampoco se recomienda en niños menores de dos años, ni en casos de hipertiroidismo, de acuerdo a lo observado experimentalmente en ratas (el mecanismo no está dilucidado). El timol no debe administrarse en presencia de enterocolitis, insuficiencia cardíaca y durante el embarazo. (1)(73)

Los preparados a base de tomillo están contraindicados en caso de hipersensibilidad a alguno de sus componentes, a otras labiadas o a los bálsamos. Los síntomas de alergia pueden incluir náuseas, émesis (vómito), prurito (picazón severa), angioedema (hinchazón bajo la piel), disfagia (dificultad para tragar), disfonía (voz alterada), hipotensión (presión arterial baja), y dificultad respiratoria progresiva. Se ha reportado asma ocupacional. (53)(73)

Aunque no se ha estudiado bien en animales, las flores y hojas del tomillo parecen ser seguras en culinaria y en usos medicinales limitados. Se justifica ser precavidos con el uso del aceite de tomillo, el cual no debe ser ingerido oralmente y debe diluirse cuando se aplica en la piel, debido a efectos potencialmente tóxicos. (73)

Los efectos secundarios del tomillo ingerido oralmente podrían incluir dolores de cabeza, mareos, hipotensión (presión arterial baja), bradicardia (frecuencia cardíaca desacelerada), agrieras, náuseas, vómito, diarrea, irritación gastrointestinal, debilidad muscular e inflamación exacerbada asociada con infecciones del tracto urinario. Úsese con cautela en pacientes con irritación gastrointestinal o enfermedades de úlcera péptica. Ingerir tomillo por vía oral podría causar convulsiones, coma, paro cardíaco o paro respiratorio. (73)

Altas dosis de tomillo o aceite de tomillo pudieran causar taquipnea (respiración rápida). También se han reportado inflamación de los ojos y de la mucosa nasal con la exposición al polvo de tomillo. (73)

1.2.3.9 Formas Galénicas

Infusión: Para adultos y niños mayores de dos años 1-2 g planta seca por taza. Se prescriben 3-4 tazas diarias.

Extracto seco: Relación 10:1, administrándose 0,5-1 g diarios, repartidos en 2-3 toma.

Extracto Fluido: (1g =40 gotas), se administran entre 2 y 6 g diarios, repartidos en 2-3 tomas. (1)

Tintura: Relación 1:5, en 45% de alcohol. Se prescribe a razón de 2-6 mL 3 veces al día. También en relación 1:10, en etanol 70%, a razón de 40 gotas 2-3 veces al día.

Uso tópico: La decocción e infusión de 50 g/L para efectuar baños, duchas vaginales, compresas, etc. El *timol* solo o el aceite esencial son empleadas en cremas, ungüentos y lociones antibacterianos en concentración de 0,1-1%. (1)

Aceite esencial: El aceite esencial se puede administrar por vía oral (1-5 gotas por dosis, sobre un terrón de azúcar o en solución acuosa), en forma de inhalaciones secas (5 gotas sobre un pañuelo), inhalaciones húmedas o vahos (5-10 gotas en 0,5 L de agua hirviendo), cápsulas entéricas (25-50 mg por cápsula), entre otras. (53)

1.3 INFLAMACIÓN

El término “inflamación” deriva del latín *inflammare*, que significa encender fuego. En medicina se denomina con el sufijo *itis*. Es una respuesta fisiopatológica fundamental cuyo objetivo es la eliminación de cualquier estímulo nocivo introducido en el huésped y de reparar el tejido u órgano dañado. Estos estímulos nocivos incluyen agentes causales externos (microorganismos, agentes físicos, agentes químicos) y agentes causales internos (alteraciones inmunitarias y alteraciones vasculares). (26)

Los cuatro signos cardinales de la inflamación fueron descritos por Celsus (30 AC al 38 DC) y son: rubor (coloración roja); tumor (hinchazón); calor y dolor. El calor y rubor se deben a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el foco. El tumor se produce por el edema y acúmulo de células inmunes, mientras que el

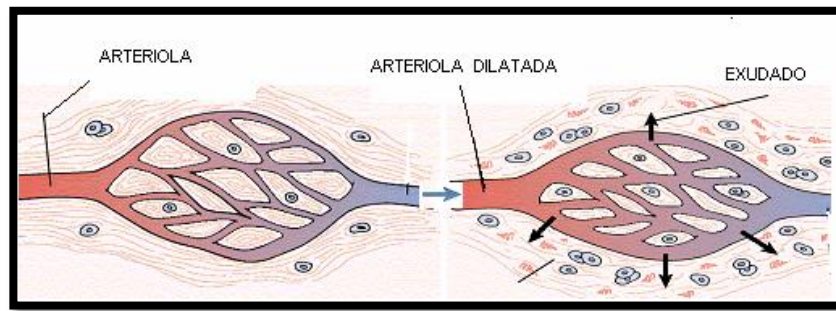
dolor es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor. (26) (36)

Posteriormente Galeno (130-200) añadió un quinto signo: pérdida de función. Los cambios de la microcirculación son inducidos por mediadores químicos. Estos mediadores aumentan la permeabilidad capilar para que los líquidos y las células sanguíneas pasen al espacio extravascular provocando la hinchazón y un aumento de la presión local que es el que origina el dolor. Dependiendo de las características temporales de la inflamación definimos dos tipos de respuesta: inflamación aguda e inflamación crónica. (13)

1.3.1 INFLAMACIÓN AGUDA

Es la respuesta inicial a la lesión tisular de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días). En la inflamación aguda distinguimos tres puntos clave: cambios hemodinámicos, alteración de la permeabilidad vascular y modificaciones leucocitarias. Es decir, se produce una hiperhemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia, se produce el eflujo desde los vasos sanguíneos de un líquido rico en proteínas originando el exudado inflamatorio. (26) (38)

Por tanto, la inflamación aguda se caracteriza por cambios en el calibre vascular, angiogénesis, aumento del flujo sanguíneo, aumento de la permeabilidad vascular y migración de leucocitos (predominantemente neutrófilos) desde el espacio vascular hacia el tejido dañado (diapédesis). La participación de estímulos químicos (quimiotaxis), el acumulo de un fluido rico en proteínas, de fibrina y de leucocitos en el tejido dañado son característicos en el proceso. (13)



FUENTE: GUADARRAMA, B. 2006.

FIGURA No. 4 INFLAMACIÓN AGUDA

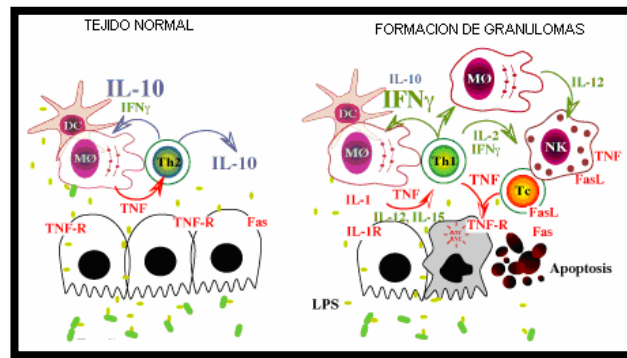
1.3.2 INFLAMACIÓN CRÓNICA

Cuando la inflamación dura semanas o meses se considera crónica y tiene dos características importantes: el infiltrado celular se compone fundamentalmente de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. La formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos. (13)

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas: progresión de una inflamación aguda, episodios recurrentes de inflamación aguda e inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc.). (26)(38)

En la inflamación crónica es relevante la presencia de macrófagos y células epitelioides, linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos. (13)

Algunas formas de inflamación crónica tienen una histología peculiar que consiste en el acúmulo de macrófagos modificados llamados epitelioides (células multinucleadas, linfocitos CD4 y CD8) que forman agregados nodulares llamados granulomas, cuyo desarrollo es controlado por citocinas y quimiocinas, entre ellas, $TNF\alpha$ e $IFN-\gamma$.(26)(38)



FUENTE: GUADARRAMA, B. 2006.

FIGURA No. 5 INFLAMACIÓN CRÓNICA

1.3.3 MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN

1.3.3.1 Migración Leucocitaria

Inicialmente, en la inflamación aguda se acumulan predominantemente los leucocitos neutrófilos polimorfonucleares y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Hay tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada, es decir, la extravasación o salida de las células desde la luz del vaso al espacio intersticial. (7)

Normalmente las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Al aumentar la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo se enlentece, lo que permite a los leucocitos acercarse al endotelio vascular. Este proceso se denomina marginación y se debe a los cambios hemodinámicos producidos en la inflamación. (30) (36) (42)

Los leucocitos escapan del torrente circulatorio mediante un movimiento ameboide activo. Cuando los leucocitos entran en contacto con la célula endotelial, proyectan pseudópodos y migran por la superficie hasta que detectan una unión celular inter-endotelial. Durante su paso desde la luz vascular al tejido extravascular, el leucocito rompe las uniones inter-endoteliales y la membrana basal probablemente a través de la secreción de colagenasa. (4)(36)

El tipo de leucocito que migra depende mucho del tiempo que dura la inflamación y del tipo de estímulo. En la mayoría de los casos, en la inflamación aguda los neutrófilos son las células predominantes durante las primeras 24 horas. Estas células empiezan a acumularse en los primeros minutos tras la lesión, mientras que los monocitos y macrófagos se acumulan más tarde, tras 24 horas. (30)

Después de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos a los lugares donde se ha producido la lesión mediante el proceso de quimiotaxis. (36)

En la zona de lesión, diversos factores favorecen la activación leucocitaria como las sustancias quimiotácticas en concentraciones elevadas, la fagocitosis y complejos antígeno-anticuerpo. La activación leucocitaria se caracteriza por la producción de metabolitos del ácido araquidónico (AA) debido al incremento de la actividad de fosfolipasa A₂ (FLA₂) por diacilglicerol (DAG) y calcio, generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y liberación del contenido lisosomal a causa de la lisis celular, lo cual conduce al daño celular y tisular. (42)

La influencia de los mediadores químicos sobre el proceso inflamatorio es un tema objeto de intenso estudio. Los mediadores se originan del plasma o de las células, la mayor parte de ellos realizan su actividad biológica mediante unión a receptores. Un mediador químico puede actuar sobre uno o múltiples tipos de células dianas, la duración de su acción es corta y la mayor parte de ellos pueden producir efectos perjudiciales. (42)

1.3.3.2 Mediadores Celulares

Los leucocitos son un conjunto de células sanguíneas móviles carentes de pigmento por lo que se les denomina glóbulos blancos. Son células con núcleo, capaces de moverse libremente mediante pseudópodos. Tradicionalmente se les clasifica en: 1) polimorfonucleares o granulocitos que agrupan, a su vez, neutrófilos, eosinófilos, y

basófilos; 2) células mononucleares que comprenden a los monocitos y linfocitos, estos últimos, son responsables de las respuestas inmunitarias. (26)

1.3.3.3 Mediadores Químicos

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilos, macrófagos y linfocitos, los basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también producen mediadores químicos. (38)

Los mediadores químicos son sustancias endógenas que se encuentran en el plasma y los tejidos, son relevantes en el proceso inflamatorio. En el plasma hay sistemas enzimáticos que juegan un papel importante en la homeostasis y el control de la inflamación, éstos son el sistema de las cininas, el sistema del complemento, el sistema de coagulación y el sistema fibrinolítico. Con excepción del sistema del complemento, los otros sistemas utilizan al factor Hageman (Fc XII) como agente que dispara la serie de reacciones en cascada, característica para cada sistema. Por otra parte en los tejidos hay mediadores químicos de la inflamación tales como aminas, lípidos ácidos, componentes lisosomales y productos generados por los linfocitos. (26)

TABLA No.1 MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN AGUDA DE ACUERDO CON SU ORIGEN

PLASMA	TEJIDOS
1.- Sistema de las cininas Bradicina, calicreína	1.- Aminas Histamina, serotonina, heparina
2.- Sistema del complemento C3a, C5a, C567	2.- Lípidos ácidos SRS-A, prostaglandinas
3.- Sistema de la Coagulación fibrinopéptidos	3.- Componente Lisosomales proteínas catiónicas proteasas ácidas proteasas neutras
4.- Sistema Fibrinolítico Plasmina	5.- Citocinas

FUENTE: GUADARRAMA, B. 2006.

1.3.3.4 El factor activador de plaquetas (FAP)

Es un mediador bioactivo derivado de los fosfolípidos. Desde el punto de vista químico el FAP es una acetil-gliceril-eterfosforilcolina. Realiza sus efectos a través de un receptor acoplado a proteína G. Diversas células como plaquetas, basófilos y mastocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos y células endoteliales pueden elaborar FAP en forma secretada y en forma intracelular. (42)

Sus efectos en la inflamación son: vasodilatación potente, aumento de la permeabilidad por contracción de las células del endotelio de las vénulas y es mil veces más potente que la histamina y la bradiquinina, factor quimiotáctico, estimula la adhesión leucocitaria.(42)

1.3.3.5 El óxido nítrico (NO)

Es un mediador pleiotrópico de la inflamación. Es sintetizado por las células endoteliales, macrófagos y grupos neuronales específicos del cerebro. El NO tiene un mecanismo de acción paracrino sobre las células dianas mediante la inducción de guanosin monofosfato cíclico (GMPc) que, a su vez, inicia una serie de acontecimientos intracelulares que dan lugar a una respuesta como la relajación de las células musculares lisas de la pared vascular. (42)

El NO se sintetiza a partir de L-arginina, oxígeno molecular, nicotinamin adenin dinucleotido fosfato hidrogenado (NADPH) y otros cofactores por la acción de la enzima óxido nítrico sintetasa. Se ha comprobado que la activación del FNkB esta implicado en el incremento de la expresión del óxido nítrico sintasa inducida (NOSi). (42)

El NO desempeña un papel importante en la función vascular durante las respuestas inflamatorias y provoca aumento de la vasodilatación, la permeabilidad vascular y la quimiotaxis. (42)

1.3.3.6 Enzimas lisosomales.

Las enzimas lisosomales contenidas en neutrófilos y monocitos pueden ser liberadas y contribuir a la respuesta inflamatoria, su liberación es consecuencia de la lisis celular. Los neutrófilos presentan dos tipos de gránulos: los gránulos específicos o secundarios y los gránulos azurófilos o primarios. (42)

Los gránulos específicos contienen lisozima, colagenasa, gelatinasa, lactoferrina, activador del plasminógeno, histaminasa y fosfatasa alcalina; los gránulos azurófilos contienen mieloperoxidasa, factores bactericidas (lisozima, defensinas), hidrolasas ácidas, proteasas neutras (elastasa, catepsina G, colagenasas inespecíficas y proteinasa). (42)

Las proteasas neutras pueden degradar colágeno, membranas basales, fibrina, elastina, y cartílago dando lugar a la característica destrucción tisular de los procesos inflamatorios purulentos y deformantes. Los monocitos y los macrófagos contienen hidrolasas ácidas, colagenasa, elastasa, fosfolipasa, y activador del plasminógeno. (42)

1.3.3.7 Las especies reactivas del oxígeno (ERO).

Las especies reactivas del oxígeno (ERO) son especies químicas muy reactivas, a partir de las cuales se producen reacciones en cadena que provocan la alteración de biomoléculas, incrementan la peroxidación de los lípidos de membrana, dañan células y tejidos. Las especies reactivas del oxígeno son los radicales libres radical anión superóxido (O_2^-), y radical hidroxilo (OH) y las especies no radicales peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singlete (1O_2). (42)

Estas especies reactivas se forman en el organismo como parte de procesos metabólicos entre los que se encuentran: la cadena de transporte electrónico, la descarga respiratoria de los fagocitos, la reacción de la xantina oxidasa y el sistema enzimático del citocromo P450. (42)

Cuando por determinadas razones los procesos de oxidación que generan radicales libres en el organismo se incrementan o disminuyen las defensas antioxidantes, se produce lo que se conoce con el nombre de estrés oxidativo. Este está vinculado a un grupo de enfermedades, de hecho la producción de radicales libres forma parte de la fisiopatología de las mismas entre las cuales se encuentran: Parkinson, Alzheimer, enfermedades cardiovasculares, daño por isquemia reperfusion, choque circulatorio, insuficiencia cardiaca, aterosclerosis, diabetes, cataratas, daño por radiaciones, el síndrome de respuesta inflamatoria y envejecimiento. (42)(50)

Las ERO pueden ser liberadas al espacio extracelular por los leucocitos tras la exposición a agentes quimiotácticos, inmunocomplejos o estimulación fagocitaria. Su producción depende de la activación del sistema oxidativo NADPH y provocan:

- Aumento de la expresión de las citoquinas, las quimioquinas (IL-8) y de las moléculas de adhesión leucocitaria endotelial.
- Lesión de las células endoteliales con el aumento de la permeabilidad vascular provocado por el aumento de la producción de superóxido.
- La inactivación de antiproteasas. (42) (50)

Se ha comprobado que el incremento de las ERO está relacionado con la activación del FNkB el cual es muy importante en la inflamación, ya que controla la transcripción de genes que codifican la expresión de IL-1, TNF- α , citoquinas, proteínas de la fase aguda, factores de crecimiento, y la expresión Cox-2, NOSi y FLA2s. (42)

1.4 TRATAMIENTOS EMPLEADOS EN PROCESOS INFLAMATORIOS

Entre las enfermedades que se manifiestan en la población mundial, las que involucran procesos inflamatorios representan un importante grupo. La mayoría de las infecciones ocurridas involucran procesos inflamatorios como respuesta natural ante traumas físicos y alergias, las que en muchos casos incapacitan a quienes la padecen, en determinadas enfermedades infecciosas importantes, la respuesta inflamatoria puede causar más daño que el agente agresor. (26)

TABLA No. 2 EJEMPLOS DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS

ENFERMEDADES EN LAS QUE LA INFLAMACIÓN JUEGA UN PAPEL PATOGENICO IMPORTANTE	
Anafilaxis	Gota
Artritis reumatoide	Lupus eritematoso
Asma	Osteoartritis
Arteriosclerosis	Pénfigo
Colitis ulcerosa	Psoriasis
Dermatitis atópica	Rechazo xenoinjerto
Enfermedad de Alzheimer	Sarcoidosis
Enfermedad de Crohn (enteritis regional)	Síndrome Isquemia-reperusión
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	Síndrome fiebre periódica
Esclerosis multiple	Tiroiditis de Hashimoto
Espondilitis anquilosante	Vasculitis
ENFERMEDAD DE ORIGEN INFECCIOSO EN LAS QUE LA INFLAMACION CONTRIBUYE A LA PATOLOGÍA TANTO COMO LA TOXICIDAD BACTERIANA	
Disentería Bacteriana	Lepra (forma tuberculoide)
Enfermedad de Chagas	Meningitis neumocócica o neissérica
Filariasis	Neumonitis fibrosa quística
Gastritis por <i>H. pylori</i>	Neumonía viral
Glomerulonefritis post-estreptocócica	Sepsis
Hepatitis C	Tuberculosis
ENFERMEDAD DE ORIGEN DIVERSO EN LAS QUE LA FIBROSIS POST-INFLAMATORIA ES UNA CAUSA PRINCIPAL DE PATOLOGÍA	
Cirrosis hepática (alcohólica o vírica)	Fibrosis pulmonar post-irradiación
Esquistosomiasis	Fibrosis pulmonar inducida por bleomicina
Fibrosis pulmonar idiopática	Rechazo crónico alogénico

FUENTE: SIÑANI, G. 2009.

En el tratamiento de los procesos inflamatorios, no solo tiene importancia conseguir una buena analgesia, sino poder controlar otros aspectos derivados de este proceso, como por ejemplo, la formación de edema, la extravasación plasmática y la migración leucocitaria que caracterizan la zona inflamada. Hasta el momento se han utilizado de manera común aunque muy controvertida los antiinflamatorios esteroideos y los antiinflamatorios no esteroideos, que inhiben los efectos vasculares (vasodilatación, formación de edema, migración leucocitaria), aunque los efectos colaterales son frecuentes. (30)

1.4.1 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

1.4.1.1 Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Los salicilatos y su derivado ácido acetil salicílico (aspirina) son representante de este grupo de agentes antiinflamatorios. Actúan inhibiendo a la ciclooxigenasa (COX), proteína integrante de las membranas microsomales y de la membrana nuclear. La COX favorece la oxidación del AA con la formación de un endoperóxido cíclico, el PGG₂, del que deriva el otro endoperóxido, el PGH₂. Este último, por acción de la protaciclinsintetasa, se transforma en prostaciclina (PGI₂) que es un poderoso antiagregante y vasodilatador. Por acción de la tromboxanosintetasa se transforma en TxA₂, que es un poderoso agregante plaquetario y vasoconstrictor. Finalmente, la PGH₂ por la acción de la PGDsintetasa, PGEsintetasa y PGFsintetasa da origen a las prostaglandinas PGE₂, PGD₂ y PGF₂. (26)

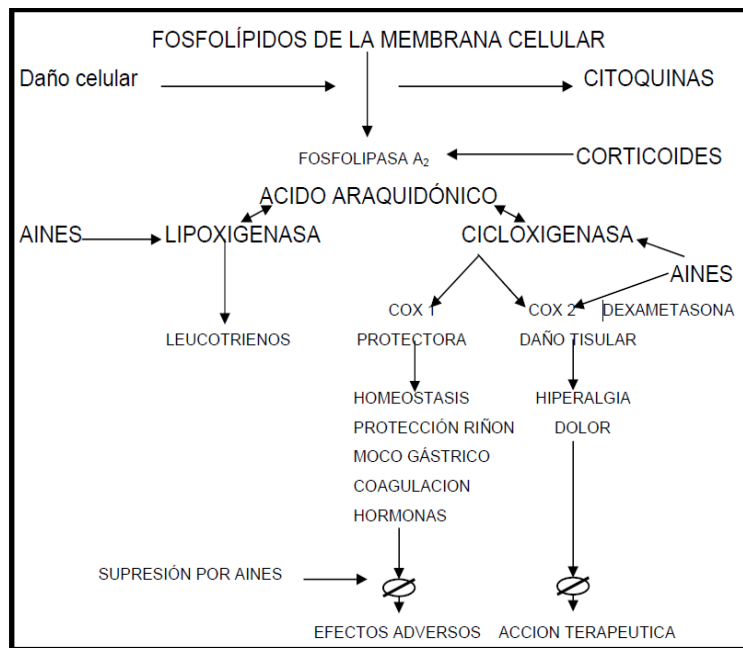
Existen dos isoformas de COX, COX-1 y COX-2. La COX-1 es una enzima «constitutiva», con actividad permanente en todas las células del organismo, salvo en los hematíes. La COX-2 es una enzima «inducida» por estímulos inflamatorios. La COX-1 es responsable de la producción continua de prostaciclina cual mantiene la integridad vascular, muy especialmente de la mucosa del tracto digestivo. Por intermedio de la PGE₂ mantiene el flujo renal. (26)

La PGD₂ inhibe la agregación de las plaquetas y la degranulación de los polimorfonucleares, pero origina broncoconstricción y aumenta la vascularización en la mucosa nasal con la producción de rinitis. La PGE₂ activa los leucocitos y las plaquetas produciendo fiebre, edema y eritema. Actúa de modo sinérgico con la bradicinina, la interleucina 1 (IL-1) y la histamina, produciendo broncoconstricción. Es una prostaglandina con gran actividad inflamatoria. Por tanto los efectos secundarios de los AINES se deben fundamentalmente a la inhibición de la COX-1 interrumpiéndose de esta forma la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos (26)

Los AINES, además de ser un grupo de medicamentos más consumido en el mundo, son los causantes de la mayoría de los efectos adversos de acuerdo a reportes elaborados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos. Los Efectos adversos indeseables más comunes son los daños gastrointestinales y renales que con frecuencia son peligrosos. (30)

1.4.1.2 Antiinflamatorios esteroideos (AIES)

El representante natural es el cortisol, hormona glucocorticoide. Estos agentes antiinflamatorios inhiben la producción de moléculas proinflamatorias, derivadas del ácido araquidónico vía la inhibición de la fosfolipasa A2, inhiben la activación de moléculas de adhesión ICAM-1, ELAM-1, citocinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF α , γ -interferón y Factor Estimulante de Colonias (GM-CSF). A pesar de la potente acción antiinflamatoria que le es atribuida, estos fármacos presentan numerosos efectos adversos. (26)(30)



FUENTE: SIÑANI, G. 2009.

FIGURA No. 6 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDEOS Y NO ESTEROIDEOS.

1.4.1.3 Naproxeno Sódico

Naproxeno, un fármaco no esteroide con propiedades antiinflamatorias y analgésicas, derivado del ácido propiónico, como todos los fármacos antiinflamatorios de su tipo, inhibe la actividad de la enzima ciclooxigenasa disminuyendo la formación de los precursores de prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. (19)(33)

El resultado de esta acción sobre varios tejidos puede ser responsable de muchas de sus acciones terapéuticas, así como de sus efectos indeseables. (19)(33)

Naproxeno y naproxeno sódico se absorben fácilmente en el tubo digestivo. Se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas aproximadamente al cabo de 1 a 2 horas de la ingestión de naproxeno sódico y de unas 2 a 4 horas de la ingestión de naproxeno. Los alimentos reducen la velocidad pero no el grado de absorción. El naproxeno y el naproxeno sódico también se absorbe tras su administración rectal, aunque su absorción es más lenta que por vía oral. A concentraciones terapéuticas, el naproxeno no se halla unido en más de 99% a proteínas plasmáticas. (19)(33)

Las concentraciones plasmáticas de naproxeno aumentan proporcionalmente con las dosis hasta unos 500 mg/día; a dosis más elevadas, aumenta su aclaramiento por saturación de las proteínas plasmáticas. (19)(33)

El naproxeno difunde al líquido sinovial; atraviesa la barrera placentaria y aparecen pequeñas cantidades en la leche materna. El naproxeno tiene una vida media de eliminación plasmática de unas 13 horas. (33)

Aproximadamente 95% de la dosis se elimina por la orina en forma de naproxeno y 6-O-desmetilnaproxeno y sus conjugados. En las heces se recuperan menos de 5% de la dosis.(19)(33)

1.5 MODELO DE INFLAMACIÓN AGUDA INDUCIDA CON CARRAGENINA

La carragenina o carragenano es una mezcla de polisacáridos sulfatados que se obtienen frecuentemente a partir de *Chondrus crispus*, alga marina de la familia *Rhodophyta*. El nombre de carragenina se deriva de la costa Irlandesa Irish de Carragheen. (26)

Preparación: Es el hidrocoloide extraído con agua o álcali acuoso de ciertas algas marinas rojas de la clase *Radoficeas* y separado de la solución por precipitación con alcohol (metanol, etanol o isopropanol) o por secado con rodillos o congelación. (11)

Constituyentes: Es una mezcla variable de ésteres de sulfato de potasio, sodio, calcio, magnesio y amonio con copolímeros de galactosa y 3,6-anhidrogalactosa, de manera que las hexosas están unidas alternativamente α -1,3 y β -1,4 en el polímero. Los tres tipos principales de copolímeros presentes son la *kappa*-carragenina, la *iota*-carragenina y la *lambda*-carragenina, que difieren en su composición y modo de enlace de las unidades monoméricas y el grado de sulfatación (el contenido de éster sulfato de las carrageninas varía de 18 a 40%). La *kappa*-carragenina y la *iota*-carragenina son las fracciones gelificantes; la *lambda*-carragenina es la fracción no gelificante. Las fracciones gelificantes pueden separarse de la fracción no gelificante por agregado de cloruro de potasio a una solución acuosa de carragenina. La Carragenina, separada por secado en tambores puede contener mono-y di-glicéridos o hasta el 5% de polisorbato 80 usado como agente mucilaginoso. (11) (26)

Descripción: Polvo grueso a fino, amarillo pardusco a blanco; inodoro, insípido. (11)

Solubilidad: Todas las carrageninas se hidratan con rapidez en agua fría, pero sólo la *lambda*-carragenina y las Carrageninas de sodio se disuelven por completo. Las carrageninas gelificantes necesitan calentamiento a unos 80°C para su completa disolución cuando están presentes iones de potasio y de calcio. (11)

Usos: En las industrias farmacéutica y alimentaria como emulsionante, agente suspensión y gelificante. (11)

La diferencia estructural de cada uno de los tipos de carragenina, determina la diferencia en sus actividades biológicas. Todos los tipos de carrageninas son considerados agentes flogísticos, aunque los mecanismos que participan en la formación del edema suplantar en el animal de laboratorio no se conocen con certeza. En la rata, se ha descrito que durante las primeras tres horas después de la administración vía plantar de la carragenina tipo lambda, se produce un comportamiento bifásico en la formación del edema plantar.(26)

En la primera fase se registra un incremento gradual del edema en el transcurso de la primera hora, seguido de una segunda fase que dura hasta tres horas después de la administración de la carragenina, y que se caracteriza por un incremento abrupto que presenta el edema a partir de los 90 minutos. (26)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Productos Naturales; Farmacognosia, Análisis Instrumental; Microbiología de Alimentos y Farmacología de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 REACTIVO BIOLÓGICO

En el estudio *in vitro* de la actividad antiinflamatoria se utilizaron un total de 15 ratas (*Rattus norvegicus*), divididas en 3 ejemplares para el patrón de referencia (Naproxeno sódico 100 mg); 3 para el grupo control Carragenina 0,5% y los restantes se dividieron tres para cada formulación de jengibre, romero y tomillo.

2.2.1.1 Clasificación Taxonómica

Superreino: Eucariota

Reino: Animalia

Subreino: Eumetazoa

Superphylum: Deuterostomia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Infraphylum: Gnathostomata

Superclase: Tetrapoda

Clase: Mammalia

Subclase: Theria

Infraclasse: Placentalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Superfamilia: Muroidea

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: *Rattus*

Especie: *norvegicus*

Nombre binomial: *Rattus norvegicus*

Subespecies: *R. n. albinicus* - *R. n. albus* - *R. n. norvegicus*. (58)

2.2.1.2 Descripción

Sexo: machos

Peso comprendido: 144-200g

Edad: 8 semanas de nacidas

Lugar de nacimiento: Bioterio de experimentación de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2.1.3 Condiciones

Temperatura: 22°C± 2

Cama con viruta con cambio cada 48 h

Ciclo de luz-oscuridad de 12/12 h

Humedad relativa entre 30-70%

Agua y comida *ad libitum*

Todos los procedimientos fueron ejecutados de acuerdo a las normas éticas dictadas por la Unión Europea para la experimentación animal.

2.2.2 MATERIA PRIMA

Como materia prima se utilizaron rizoma de Jengibre (*Zingiber officinale*), tallo y hojas de Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), hojas de Romero (*Rosmarinus officinalis*) seca y molida.

La materia prima fue recolectada en el Mes de Septiembre del 2011, en la provincia de Chimborazo, Ciudad de Riobamba, Parroquia Lizarzaburo.

2.2.3 EQUIPOS

- Balanza analítica (BOECO Germany)
- Balanza técnica (Sartorius Universal)
- Estufa (MEMMERT)
- Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
- pH-metro (HANNA INSTRUMENT)
- Refractómetro
- Refrigeradora
- Desecador
- Molino

2.2.4 MATERIALES DE LABORATORIO Y OTROS

- Soportes Universales
- Pinzas Universales
- Embudos de Separación de 250 mL
- Picnómetros
- Balones aforados de 10 y 100mL
- Balones esmerilados de 250, 500mL
- Vasos de precipitación de 50, 100 y 250mL
- Probetas de 10, 25, 50 y 100 mL
- Pipetas de 2, 5, 10mL
- Pipeta volumétrica de 2 mL
- Cápsulas de porcelana
- Piceta
- Embudos
- Trípodes
- Espátulas
- Pera de succión
- Varilla de vidrio
- Pinzas para cápsula
- Pinza para tubos
- Tubos de ensayo
- Aspersor
- Reverbero Eléctrico
- Malla metálica
- Gradilla
- Mortero
- Papel filtro
- Papel Aluminio
- Algodón
- Gasas
- Guantes estériles

- Mascarillas
- Placa de vidrio (3cm x 10cm)
- Jeringuillas de 1 y 3 mL (NYPRO)
- Cánulas
- Envases estériles de vidrio de 100mL
- Cinta métrica
- Franela
- Bisturí
- Frascos estériles
- Equipo de Disección

2.2.5 REACTIVOS

- Naproxeno sódico de 100 mg
- Carragenina
- Agua destilada
- Alcohol potable
- Alcohol antiséptico
- Gel antiséptico
- Éter dietílico
- Éter anhidro
- Acido acético
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Wagner
- Cloroformo
- Acido sulfúrico
- Acido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Hidróxido de potasio
- Amonio 5% agua
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III

- Solución de carbonato de calcio
- Cloruro férrico
- Cloruro de sodio
- Magnesio metálico
- Alcohol amílico
- Reactivo de Fehling
- Sílica gel 60F254 (Merck)
- Metanol
- Acetato de etilo
- Formol al 40%

2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL

2.3.1.1 Método Físico-Químico de Análisis

El control de calidad de la especie vegetal se realizó de acuerdo al Manual de Caracterización de Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitofarmacéuticos (SOLÍS, P.) y Real Farmacopea Española 2002.

Para el control de calidad de la especie vegetal se realiza las siguientes pruebas:

- Determinación de Humedad
- Determinación de Cenizas Totales
- Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico
- Determinación de Cenizas Solubles en Agua

2.3.1.1.1 Determinación de humedad

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

De la especie vegetal se pesa 2 g con desviación permisible de 0,5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105°C durante 3 horas. La cápsula se coloca en el desecador, donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados:

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

FÓRMULA Nº 1.

% H = pérdida en peso por desecación (%).

M₂ = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g).

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

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático.

2.3.1.1.2 Determinación de cenizas totales

Las cenizas que queden después de la calcinación de los materiales procedentes de plantas medicinales, se determinan mediante tres métodos diferentes, que miden las cenizas totales, las cenizas insolubles en ácido y las cenizas solubles en agua.

El método de cenizas totales está diseñado para medir la cantidad total de materia que queda después de la ignición. Esto incluye tanto a las “cenizas fisiológicas”, que proceden del tejido mismo de las plantas, como a las “cenizas no fisiológicas”, que son el residuo de la materia extraña (ejemplo arena y tierra) adherida a la superficie de la planta.

Incinerar 2.0 g de la muestra de ensayo en un crisol de porcelana previamente tarado, a una temperatura no mayor de 450°C hasta que esté libre de carbón, enfriar y pesar. Si no se puede obtener una ceniza libre de carbono de esta manera, añadir agua caliente a la masa quemada y recoger el residuo sobre papel filtro libre de cenizas, incinerar el mismo junto con el papel, luego añadir el filtrado, evaporar a sequedad e incinerar a una temperatura no mayor de 450°C.

Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg por g (masa constante).

Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Expresión de los resultados:

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

FÓRMULA Nº 2.

$\%C_T$ = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g).

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

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

2.3.1.1.3 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Las cenizas insolubles en ácido son el residuo obtenido después de hervir las cenizas totales con ácido clorhídrico diluido y llevar a la ignición el material insoluble restante. Estas miden la cantidad de sílice presente, especialmente como arena y tierra silícea.

Hervir la ceniza durante 5 minutos con 25 mL de HCl 2M, recoger la materia insoluble en un embudo de filtración poroso o sobre un papel filtro libre de cenizas, lavar con agua caliente e incinerar a una temperatura que no sobrepase los 450°C.

Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%C_1 = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

FÓRMULA Nº 3.

$\%C_1$ = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M_1 = masa del crisol con la porción de ensayos (g).

M = masa del crisol vacío (g).

M_2 = masa del crisol con las cenizas ácido clorhídrico (g).

100 = factor matemático.

2.3.1.1.4 Determinación de cenizas solubles en agua

Las cenizas solubles en agua son la diferencia en peso entre las cenizas totales y el residuo después del tratamiento de las cenizas totales con agua. Hervir la ceniza obtenida según ceniza total con 25 mL de agua por 5 minutos. Recoger la materia insoluble en un

papel filtro libre de cenizas. Lavar con agua caliente e incinerar por 15 minutos a una temperatura no mayor de 450°C.

Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados:

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

FÓRMULA Nº 4.

$\%C_A$ = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g).

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

M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

2.3.2 PARÁMETROS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA DROGA VEGETAL

El material procedente de plantas medicinales tiene normalmente un gran número de bacterias y mohos, con frecuencia provenientes del suelo. De entre la gran variedad, de bacterias y hongos provenientes de la microflora propia de la plantas, casi siempre predominan las bacterias aerobias formadoras de esporas. Además, las prácticas de cultivo, manejo y producción pueden causar contaminación y crecimiento microbiano adicional. La determinación de *Escherichia coli* y de mohos puede ser un indicativo de la calidad de las técnicas de producción y cosecha. (20)

Se han ido restringiendo los métodos de descontaminación, por ejemplo en la Unión Europea, se ha prohibido el uso de óxido de etileno. En algunos países los tratamientos con radiación ionizante también se ha restringido o requieren permisos especiales. (20)

2.3.2.1 Límites de Contaminación Microbiana en materiales procedentes de Plantas Medicinales

La materia prima utilizada para la preparación de extractos vegetales debe tener un control en su calidad sanitaria antes de ser destinada a la población. Por esta razón fue considerada la determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria, como coliformes totales, coliformes fecales, aerobios mesófilos y mohos y levaduras. Para este análisis se utilizaron el método Petrifilm de 3M. (20)

Se establecen límites diferentes de acuerdo al uso del material y el material en sí.

Para contaminación del material vegetal “crudo” que será sometido a procesos posteriores (incluyendo descontaminación adicional por medios físicos o químicos), se dan límites, para material no tratado, cosechado en condiciones de higiene aceptables (tomados de guías establecidas por un comité consultivo internacional). *Escherichia coli*, máximo 10^4 UFC por gramo; Propágulos de hongos, máximo 10^5 UFC por gramo. (20)

Para material vegetal pretratado (por ejemplo con agua hirviendo como se usa en tisanas e infusiones) o que son usados en formas de dosificación tópica.

- Bacterias aerobias, máximo 10^7 UFC por gramo
- Levaduras y hongos, máximo 10^4 UFC por gramo
- *Escherichia coli*, máximo 10^2 UFC por gramo
- Otras enterobacterias, máxima 10^4 UFC por gramo
- Salmonellas, ninguna. (20)

Para otros materiales de uso interno

- Bacterias aerobias, máximo 10^5 UFC por gramo
- Levaduras y hongos (mohos), máximo 10^3 UFC por gramo
- *Escherichia coli*, máximo 10 UFC por gramo
- Otras enterobacterias, máximo 10^3 UFC por gramo
- Salmonellas, ninguna (20)

2.3.2.2 Método Petrifilm para la determinación del Recuento de Microorganismos

- Pesar 25g de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0,1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0,1% y obtener una dilución de 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones.
- Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior, con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 mL de la muestra en el centro del film inferior. Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire, no dejarlo caer.
- Con la cara lisa hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo, con cuidado ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No girar ni deslizar el aplicador, levantar el aplicador.
- Esperar al menos un minuto a que solidifique el gel. (59)

TABLA No. 3 MÉTODO PETRIFILM PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECUENTO DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA VEGETAL.

DETERMINACIONES DE MICROORGANISMOS	MÉTODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN	VALORES DE REFERENCIA MÁXIMO UFC/g
Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos REP UFC/g	Método AOAC* (990.12 Recuento de aerobios, film seco rehidratable) 35 ± 1°C/48±2h	1 x 10 ⁵
Determinación de Microorganismos Coliformes totales UFC/g	Método AOAC* (998.08 Recuento de coliformes totales, film seco rehidratable) 35 ± 1°C/24±2h	-----
Determinación de Microorganismos Coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> UFC/g	Método AOAC* (991.14 Recuento de coliformes y <i>Escherichia coli</i> , film seco rehidratable) 35 ± 1°C/48±2h	1 x 10
Determinación de Mohos y levaduras UFC/g	Método AOAC* (997.02 Recuento de levaduras y mohos, film seco rehidratable) 20-25 ± 1°C/5 días	1 x 10 ³

FUENTE: http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy4xTtEVuQEcuZgVs6EVs6E666666--&fn=HSCC%20Interp%20Guide_sp.pdf 20111211
 *Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

2.3.2.3 Método Petrifilm Recuento de Aerobios mesófilos totales.

Las placas para recuento de mesófilos aerobios están listas para usarse en cualquier momento para pruebas de producto, proceso o monitoreo ambiental. Su diseño exclusivo tiene los elementos nutritivos del agar para recuento (PCA), un agente gelificante soluble en agua, y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias.

2.3.2.3.1 Interpretación

- Un tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuento todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo. De esta forma se pueden diferenciar de las partículas de producto que tienen forma irregular y color opaco.
- El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm esta entre 25–250 colonias. Cuando el número de colonias es mayor a 250, por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en 1 cuadrado (cm²) y multiplíquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm es 20 cm².
- Con conteos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse rosa. Usted podría observar colonias individuales solo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este conteo como muy numeroso para contar (MNPC) (59)

2.3.2.4 Método Petrifilm Recuento de Coliformes totales y *Escherichia coli*.

Las placas Petrifilm CC contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes.

En las placas Petrifilm CC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas. Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm CC producen ácido que provoca que el indicador de pH oscurezca el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias indica coliformes.

Esta placa petrifilm contiene un indicador de actividad glucoronidasa que facilita la enumeración de las colonias. Aproximadamente el 97% de las colonias *E. coli* producen beta glucoronidasa la que a su vez forma un precipitado azul asociado a la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por parte de

los Coliformes y *E. coli*. Cerca del 95% de las *E. coli* produce gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la placa Petrifilm.(59)

2.3.2.4.1 Interpretación

- Contar todas las colonias rojas con gas. Pueden aparecer burbujas como artefactos debidas a una inoculación inadecuada de la placa Petrifilm CC o de aire atrapado en la muestra. Las burbujas tienen forma irregular y no están asociadas a una colonia de igual manera las partículas alimenticias tienen forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas
- El intervalo óptimo de recuento (colonias totales) en las placas Petrifilm CC es 15-150 colonias. No contar las colonias que aparecen sobre la zona blanca ya que no están bajo la influencia selectiva del medio
- El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm CC es de aproximadamente 20 cm². Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento estimado por placa Petrifilm CC. Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.
- Cuando un alto número de microorganismos no-coliformes, tales como *Pseudomonas*, están presentes en las placas Petrifilm CC, el gel puede virar a amarillo.
- Cerca del 95% de las *E. coli* produce gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la placa Petrifilm.
- Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura. (59)

2.3.2.5 Método Petrifilm Recuento de Levaduras y Mohos.

Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Estos organismos invaden ingredientes secos, equipo en proceso así como instalaciones de almacenaje. Está constituida por una película cubierta de nutrientes, antibióticos y agentes gelificantes,

contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

2.3.2.5.1 Interpretación

- Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:
 - a) Levaduras son colonias pequeñas, poseen bordes definidos, de color rosa-tostado a azul-verdoso, estas pueden aparecer alzadas ("3D"). Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia.
 - b) Mohos son colonias grandes, planas; poseen bordes difusos, color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos). Generalmente con un foco en el centro de la colonia
- Cuando el número de colonias es más de 15-150 colonias, se debe hacer una estimación determinar el número medio de colonias en un cuadrado (1 cm²) y multiplicar por 30 para obtener el recuento total por placa.
- Para facilitar el recuento dividir la placa en secciones y buscar focos que permitan distinguir colonias individuales.
- Igual que con todos los métodos de recuento en placas, las placas con muchas colonias pueden mostrar características de colonias atípicas. Es importante hacer una correcta dilución para asegurar un recuento exacto.
- Reacción de la fosfatasa: Todas las células vivas contienen el enzima fosfatasa. En presencia de la fosfatasa el indicador de las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos se activa y las colonias de levaduras y mohos se colorean de azul. Algunos alimentos crudos o procesados que contienen células vivas (y por tanto, fosfatasa) pueden dar reacción a color azul. A veces pueden observarse 2 tipos diferentes de reacciones de color de los productos: un color azul uniforme del medio o puntos azules intensos (se ven a menudo en especias o productos granulados). (59)

2.3.3 ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS

- a) A 100 g de planta se añade 100 mL de alcohol al 70% para humectar a la planta por el tiempo mínimo de 1 hora.
- b) Mezclar hasta que se obtenga una masa semisólida
- c) Mover continuamente
- d) Probar el percolador y a este colocar al fondo algodón
- e) Colocar la planta humectada en el percolador
- f) Se coloca alcohol al 70% la cantidad necesaria hasta que cubra la planta
- g) Cubrir con papel filtro y tapar el percolador con papel aluminio
- h) Dejar reposar al menos 16 horas
- i) Al día siguiente se obtiene el percolador 75 mL del extracto y guardar en un frasco ámbar
- j) Mientras que se obtiene 500 mL del extracto a una velocidad de 40 gotas/mL. Se concentra a presión reducida hasta 25mL de extracto.
- k) Esto se añade junto con los 75 mL obteniendo la cantidad de 100 mL de extracto que se guardan en un frasco ámbar de vidrio
- l) Se guarda en el congelador para estabilizar.

2.3.4 PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, ROMERO Y TOMILLO.

- Parámetros de Calidad Físicos (características organolépticas, índice de refracción, densidad relativa, sólidos totales y análisis capilar)
- Parámetros de Calidad Físico-Químicos (pH), y químico-cualitativo (tamizaje fitoquímico)

2.3.4.1 PARÁMETROS DE CALIDAD FÍSICOS

2.3.4.1.1 Determinación de los requisitos organolépticos.

1. Determinación de olor

Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del extracto.

2. Determinación del color

Se toma un tubo de ensayos bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. Se informa los resultados.

2.3.4.1.2 Determinación de la densidad relativa.

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Primeramente pése el picnómetro vacío y secos 2° C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (±1°C) durante 15 min y ajústese el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpio el picnómetro.

Expresión del resultado.

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

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

Donde:

D = densidad relativa.

M₁ = peso del picnómetro con la muestra (g).

M₂ = peso del picnómetro con el agua (g).

M = peso del picnómetro vacío (g).

2.3.4.1.3 Determinación del índice de Refracción.

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\text{Seni}}{\text{Senr}}$$

FÓRMULA Nº 6.

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

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002.

Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$Nd_{25} = Ndt + 0.00044 (t-25)$$

FÓRMULA Nº 7.

Donde:

Nd_{25} = índice de refracción a 25°C.

Ndt = Valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

2.3.4.1.4 Determinación del pH.

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno (pH). El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$pH = - \log [H^+]$$

FÓRMULA No.8

$[H^+]$ = actividad de los iones hidrógeno.

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

2.3.4.1.5 Determinación de Sólidos totales.

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales.

Transferir a una cápsula previamente tarada a 105°C, 2 mL de muestra y llevar a baño maría, completar la evaporación en estufa a 105 °C por 3 horas, pesar las cápsulas, y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según la fórmula:

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

FÓRMULA No.9

Donde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P == masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 == factor matemático para el cálculo.

2.3.4.2 PARÁMETROS DE CALIDAD QUÍMICO-CUALITATIVO (TAMIZAJE FITOQUÍMICO)

2.3.4.2.1 Ensayo de Dragendorff

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

2.3.4.2.2 Ensayo de Wagner

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

2.3.4.2.3 Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesa 35g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesa 150g de tartrato de sodio y potasio y 40g de hidróxido de sodio y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

2.3.4.2.4 Ensayo de Liebermann-Burchard

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

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

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

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

IMPORTANTE: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

2.3.4.2.5 Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

2.3.4.2.6 Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

2.3.4.2.7 Ensayo de Sudan III

Permite conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudan III al 0,6 % en glicerina-agua (1:1).

La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro, indica la presencia de Lípidos y/o Aceites Esenciales.

2.3.4.2.8 Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

2.3.4.2.9 Ensayo de la Espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.3.4.2.10 Ensayo del Cloruro Férrico

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

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

2.3.4.2.11 Ensayo de Shinoda

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

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

2.3.4.2.12 Ensayo de Antocianidinas

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calienta 2 mL del extracto etanólico por 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 mL de agua y 2mL de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica indica ensayo positivo.

2.3.4.3 IDENTIFICACIÓN DEL COMPUESTO REPRESENTATIVO (CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA)

Para cada extracto fluido:

- En forma individual cada extracto tomar 10 mL, concentrar a baño maría controlando la temperatura del baño (40 – 45°C) hasta obtener la cantidad de 2 mL.
- Se aplica 10 µL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel con ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación.
- Colocar el solvente de corrido en la cuba tapar para saturar de vapor.

- Se introduce la placa en la cuba cromatografía hasta que el solvente recorra a 1cm del borde superior de la placa.
- Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm.
- Revelar la placa, dejar secar, calentar en la estufa y anotar los Rf.

Se realizó una cromatografía en capa fina para identificar la presencia de aceites esenciales en extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero de acuerdo a las siguientes condiciones:

Adsorbente: Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

Sistema de solventes: Tolueno: Acetato de etilo (93:7)

Revelador: Vainillina –. Ácido sulfúrico.

Se analizaron las respectivas fracciones obtenidas de los extractos de jengibre, romero y tomillo.

CÁLCULO:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida del solvente}}$$

FÓRMULA No.10

2.3.4.4 PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA

Es conocido que el proceso inflamatorio puede ser producido por un conjunto de mediadores actuando independientemente y en forma sinérgica, ocurriendo que un mismo mediador puede ser activo en las diferentes etapas de respuesta inflamatoria. (18)

Los biomodelos para la investigación de la actividad antiinflamatoria tienen como base para el ensayo los síntomas de la inflamación, siendo el más frecuentemente utilizado el edema. En estos modelos, la mayoría de veces solamente nos permite llegar a determinar la actividad más no el mecanismo implicado en el proceso antiinflamatorio que presenta el extracto de la planta investigada, pero son de gran importancia ya que nos permiten

hacer un evaluación de esta actividad y puede ser el punto de partida para la investigación de nuevos compuestos capaces de interferir en el proceso inflamatorio. (18)

La técnica utilizada para evaluar la actividad antiinflamatoria fue la del edema de pata en rata, inducido por carragenina (Método de Wintter y col.). (12) (18)

El método de edema plantar inducido por carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc. (8)(37)

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. De una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase esta mediada por prostaglandinas (PGE_1 y PGE_2 , PGF_2). (8)(37)

La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente. (37)

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido esta menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad anti-inflamatoria en clínica. (37)

Se utilizaron grupos de 3 ratas por cada formulación. Se midieron los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas con una cinta métrica. Las formulaciones a ensayar se administraron por vía oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua destilada. El grupo control recibió solamente el vehículo y otro grupo una dosis del agente antiinflamatorio (Fármaco de referencia) Naproxeno sódico 100 mg (12,40 mg/Kg).

Media hora después de la administración de las sustancias de ensayo, se indujo el edema inyectando 0,1mL de una disolución acuosa al 0,5% de carragenina en la aponeurosis plantar derecha de las ratas. La medida del volumen de la pata derecha inflamada se realizó con una cinta métrica (largo y diámetro). La inflamación se cuantificó midiendo el volumen de las patas a las 0, 1, 2, 4, 6, 8,10 y 12 horas después de la inyección de carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación.

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

$$\text{Volumen} = \pi/4d^2h$$

FÓRMULA No.11

Donde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

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

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_{\text{control positivo}} - V_{\text{normal}}}{V_{\text{normal}}} \times 100$$

FÓRMULA No.12

Donde:

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

V normal = volumen normal (antes de la aplicación de Carragenina). (68)

Nota: Las ratas se encontraban en un estado de salud óptimo y en ayuno de 12 horas.

El porcentaje de Inhibición de la reacción inflamatoria de la Carragenina, se calcula en la fase aguda a las 1, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas de la inyección de la misma.

$$\% \text{ Inhibición fase aguda} = \frac{V_{\text{control problema}} - V_{\text{control positivo}}}{V_{\text{control problema}}} \times 100 \quad (68)$$

FÓRMULA No.13

Donde:

V control problema = volumen de la pata inflamada sin antiinflamatorio

V control positivo = volumen de la pata inflamada con antiinflamatorio

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

2.3.4.4.1 Modelo Experimental

En el cuadro siguiente se muestra el esquema de ensayo utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria de 3 formulaciones conformadas por la mezcla de extractos fluidos de Jengibre (*Zingiber officinale*), Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), y Romero (*Rosmarinus officinalis*). Se observa cada 2 horas el volumen de la inflamación en la región plantar de la rata.

CUADRO No. 1 MODELO EXPERIMENTAL EN LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA

TRATAMIENTOS	B1 (%)	B2 (%)	B3 (%)	Proporción
T1	50	25	25	2:1:1
T2	20	40	40	1:2:2
T3	33	33	33	1:1:1

Donde:

B1=Jengibre 14,3mg/Kg

B2= Tomillo 42,9mg/Kg

B3=Romero 28,6mg/Kg

CUADRO No. 2 FORMULACIONES UTILIZADAS EN LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA, EMPLEANDO EL MODELO DEL EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA

TRATAMIENTOS	B1(mg/Kg)	B2 (mg/Kg)	B3(mg/Kg)	DOSIS (mg/Kg)
T1	28,6	42,9	28,6	100,1
T2	14,3	85,8	57,2	157,3
T3	14,3	42,9	28,6	85,8

En este estudio se analizó la actividad antiinflamatoria de tres formulaciones conformada por los extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero a diferentes proporciones, la parte de la planta utilizada para la elaboración de los distintos extractos fluidos fueron: rizoma del Jengibre, hojas y tallos del Tomillo y hojas del Romero, dicha actividad se evaluó a través del Test de Edema inducido por Carragenina al 0,5% el reactivo biológico utilizado fue ratas (*Rattus norvegicus*) de peso comprendido entre 144-200g. Como se mencionó las distintas formulaciones fueron inoculados vía oral, usando una cánula que depositó directamente en el estómago de la rata. Se utilizó Apronax (Naproxeno Sódico 100mg) como droga control, administrada vía oral a una dosis de 12,40 mg/Kg de peso corporal.

Se realizaron las respectivas mediciones del edema plantar de la rata, para esto se tomó en cuenta tanto el largo como el diámetro de la pata, con estos datos se aplicó la respectiva fórmula para el cálculo del volumen descrita anteriormente, esto se lo efectuó cada 2 horas, desde las 0 horas hasta las 12 horas después de la administración.

CUADRO No. 3 TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA, EMPLEANDO EL MODELO DEL EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA

TRATAMIENTOS	REPETICIONES		
T1	R1	R2	R3
T2	R1	R2	R3
T3	R1	R2	R3
T4	R1	R2	R3
T5	R1	R2	R3

Donde:

T1= Formulaci3n 1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg

T2= Formulaci3n 2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg

T3= Formulaci3n 3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg

T4= Grupo Control Carragenina 0,5%

T5= Medicamento de Referencia Naproxeno s3dico 12,40 mg/Kg

Se emplear3n 15 animales de experimentaci3n. Aplicando el principio de las 3R (reducci3n, refinamiento y reemplazo), se utilizan 15 animales de experimentaci3n para la primera ronda de administraci3n y se realizaran 3 repeticiones para verificar la reproducibilidad y se valide la investigaci3n. En total se necesitan como m3ximo 45 animales de experimentaci3n.

2.3.4.5 EVALUACI3N DE LA TOXICIDAD AGUDA DE EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES.

2.3.4.5.1 Dise1o Experimental

Aleatoriamente se conformaron tres grupos experimentales, dos grupos tratados y uno como testigo de tres ratas conformadas cada una. La sustancia de ensayo (Formulaci3n 2) fue administrada con un ayuno previo de 16 a 18 horas por v3a oral empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orog3strica, a dosis 3nica de 2000 mg/kg de masa corporal, teniendo en cuenta la ausencia de signos o s3ntomas de toxicidad por esta v3a de administraci3n y los datos toxicol3gicos de las sustancias de ensayo. (34)(49)

Se dosificaron 6 machos del grupo experimental, administr3ndoles un volumen de 10 mL/Kg masa corporal de las sustancias de ensayo; ratas con un peso promedio de 198,7±12g, con la misma edad y el mismo alimento los cuales est3n aptos para realizar el estudio de toxicidad aguda por v3a oral.

A los animales se les retiró el alimento 18 horas antes de la exposición de la formulación 2 en prueba. El tiempo que duró la prueba fue 17 días. (3 de aclimatación y 14 de ensayo). El grupo control recibió el mismo volumen de agua destilada.

Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos, con especial atención durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, recogiendo signos y síntomas de toxicidad. (34)(74)

Las observaciones estuvieron dirigidas a la determinación de: muerte y tiempo de ocurrencia de la misma, signos y síntomas de toxicidad incluyendo su comienzo y duración, además de cambios en la piel, membranas de mucosas y ojos, en el sistema respiratorio, en el circulatorio, en el nervioso central y en el autónomo, en la actividad somatomotora y en la conducta. Se prestó especial atención a la potencial ocurrencia de temblor, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, somnolencia y coma. (34)(74)

Pruebas de Evaluación: Se evaluó los siguientes signos clínicos:

- Actividad general
- Grito
- Irritabilidad
- Respuesta al toque
- Huida
- Patas posteriores
- Enderezamiento
- Convulsiones
- Lagrimación
- Salivación
- Micción
- Hipotermia
- Muerte (8)

Los valores son atribuidos arbitrariamente a partir de aquellos que son considerados normales. Así los parámetros, cuyos valores iniciales reciben una anotación de 4 pueden disminuir hasta 0, en el caso de desaparición de una respuesta analizada, o aumentar hasta 8, en el caso de un aumento de la respuesta. Para aquellas respuestas con una anotación normal 0 solo podrá haber un aumento del efecto analizado, que puede tener máximo 4.

Se controló el peso vivo de los animales en los días 1, 7 y 14 del experimento como uno de los parámetros demostrativos de toxicidad. Al concluir el experimento se sacrificaron los animales por inhalación de éter etílico para el posterior estudio anatómico-patológico macro-microscópico del estómago, el hígado, y los riñones. (34)

2.3.4.5.2 Estudio Histopatológico

FIJACIÓN DEL TEJIDO

Mediante la fijación se logra detener los procesos de destrucción, celular o hística, que se producen por las enzimas contenidas en ellos, una vez muerto el organismo o al separarla de él. Este proceso de destrucción celular recibe el nombre de autólisis.

Por otra parte, la estructura se conserva lo más natural posible, ya que las sustancias fijadoras actúan sobre los componentes celulares deteniendo la autólisis mediante reacciones químicas con reactivos como el formol, el glutaraldehído, el tetraóxido de osmio, etc., o pueden actuar coagulando las proteínas cuando se utiliza el calor. (35)(56)

INCLUSIÓN

Al realizar la inclusión del tejido, el material tiene la suficiente firmeza al cortarse. El agua que contiene el tejido se sustituye por una sustancia que le da rigidez y evita que se deforme. Esto se logra introduciendo el material a procesar en alcoholes de degradación creciente (70%, 80%, 90%), lo que irá sustituyendo el agua por el alcohol. Después el alcohol es sustituido por un solvente orgánico como es el xilol, la acetona, etc., para de esta forma terminar incluyendo el tejido en una sustancia que es miscible en este solvente orgánico. Estas sustancias son la parafina, que se utiliza en microscopía óptica. (35)(56)

CORTE (Microtomía)

Los tejidos deben ser cortados en láminas delgadas para posibilitar su observación con el microscopio, los instrumentos utilizados para la obtención de cortes son los micrótomos;

permite fijar el bloque y obtener secciones cuyo espesor se mide en milésimas de milímetro.

Los cortes así obtenidos presentan pequeños pliegues y arrugas que pueden eliminarse si se los flota en agua tibia, debido a la elevada tensión superficial del agua. Luego de ello se recogen sobre delgadas láminas de vidrio llamada portaobjetos, a las cuales se adhieren generalmente a través de adhesivos como el silane o la poli-L-lisina.

Los cortes se secan y luego se los pasa por solventes intermediarios como el xileno, el benceno o el tolueno y se los hidrata en alcoholes de concentración decreciente hasta llevarlos al agua destilada para su posterior coloración. (35)(56)

COLORACIÓN

Para el estudio de cortes al microscopio óptico de campo brillante es necesario colorear previamente la muestra con diferentes compuestos químicos (colorantes), que tienen la capacidad de reaccionar con los diversos componentes de las estructuras celulares.

Los colorantes que corrientemente se emplean para la observación de láminas histológicas, son sales neutras que presentan radicales ácidos o básicos, es decir, colorantes ácidos y básicos. Una coloración de uso corriente en histología es la hematoxilina y eosina. Con esta coloración se observa que el núcleo se tiñe con el colorante básico (azul), y el citoplasma se colorea con el colorante ácido (rosado).

El núcleo, al tener afinidad por el colorante básico (el ADN capta el colorante básico), es basófilo y la propiedad que manifiesta esa estructura se denomina basofilia. Por su parte, el citoplasma, excepto en células secretoras de proteínas, es generalmente acidófilo, es decir, tiene afinidad con el colorante ácido eosina. La propiedad de reaccionar con los colorantes Ácidos, es la acidofilia. (35)(56)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se expondrán en cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos al aplicar todo lo descrito en los dos capítulos anteriores, ya que previa la utilización de las drogas vegetales en las diferentes aplicaciones, se recomienda la realización de las pruebas de control de calidad de la planta cruda y de los extractos fluidos.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA VEGETAL

3.1.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

CUADRO No. 4 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN PLANTA FRESCA DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. OCTUBRE 2011.

PLANTAS	% HUMEDAD
JENGIBRE	91,75
TOMILLO	67,76
ROMERO	54,37

En el cuadro No. 4 se puede apreciar el porcentaje de humedad de la planta fresca; en el cual se obtuvo un valor de 91,75 para el jengibre (rizoma), 67,76% para el tomillo (hojas y tallos) y 54,37% para el romero (hojas) valores que reflejan la cantidad de agua libre que contiene el material vegetal que es alta. Las plantas recién recolectadas contienen una cantidad de agua importante, variable en los distintos órganos. Las semillas y frutos secos contienen el porcentaje menor, 5 a 10%, pero las cortezas contienen del 30 al 40% de agua, las hojas del 60 al 90%, según su textura, las raíces y rizomas del 70 al 85% y las flores y frutos del 80 al 90%. (16)

CUADRO No. 5 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN DROGA SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. OCTUBRE 2011.

PLANTAS	% HUMEDAD	ESPECIFICACIÓN
JENGIBRE	3,68	
TOMILLO	5,62	<10%
ROMERO	4,13	

El porcentaje de humedad encontrado en este estudio fue de 3,68%; 5,62% y 4,13% (Cuadro No.5), para el Jengibre, Tomillo y Romero valores que se encuentra dentro de los valores óptimos para una buena conservación y almacenamiento del material vegetal que corresponde a <10% de Humedad. Comparando el Cuadro No. 4 y 5 se puede apreciar alto porcentaje de humedad en la planta fresca por lo que una forma de conservación de la droga cruda es eliminar el exceso de humedad para de esta forma evitar reacciones de hidrólisis de sus componentes, fenómenos enzimáticos y el crecimiento bacteriano. (3)(14)

3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

CUADRO No. 6 DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN PLANTA FRESCA DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. OCTUBRE 2011.

PLANTAS	% CENIZAS TOTALES	LÍMITES	% CENIZAS SOLUBLES AGUA	LÍMITES	% CENIZAS INSOLUBLES ÁCIDO	LÍMITES
JENGIBRE	0,46	< 6%	0,09	< 5%	0,34	< 5%
TOMILLO	2,86	< 15%	0,56	< 5%	0,71	< 3%
ROMERO	2,04	< 9,0%	1,39	< 5%	0,47	< 5%

En el Cuadro No. 6 se puede apreciar el porcentaje de Cenizas de las especies en estudio. Las cenizas totales en la planta fresca son de 0,46 % para el jengibre valor máximo de 6% C_T; 2,86 % para el tomillo valor máximo de 15% C_T y 2,04 % para el romero valor máximo de 9,0 % C_T. Representan el contenido en sales minerales de las especies. Las cenizas insolubles en ácido indica que la especie vegetal está contaminada con productos térreos, el valor encontrado de cenizas insolubles en ácido son de 0,34 % para el jengibre; 0,71 % para el tomillo y 0,47 % en el romero valores que se encuentran dentro de los intervalos normales que es de menos 3% para el tomillo y menos del 5% para jengibre y romero. Las cenizas solubles en agua son de 0,09 % para el jengibre; 0,56 % para el tomillo y 1,39 % en el romero valores que se encuentran dentro de los límites establecidos que es de menos 5 %. (15)(69)

CUADRO No. 7 DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN DROGA SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. OCTUBRE 2011.

PLANTAS	% CENIZAS TOTALES	LÍMITES	% CENIZAS SOLUBLES AGUA	LÍMITES	% CENIZAS INSOLUBLES ÁCIDO	LÍMITES
JENGIBRE	5,39	< 6%	3,27	< 5%	0,92	< 5%
TOMILLO	6,33	< 15%	4,28	< 5%	2,23	< 3%
ROMERO	3,67	< 9,0%	3,11	< 5%	0,73	< 5%

En el Cuadro No. 7 se puede apreciar el porcentaje de Cenizas de las especies en estudio. Las cenizas totales se componen de fosfatos, carbonatos, sulfatos, sílica y silicatos, el valor encontrado de cenizas totales en estas especies son de 5,39 % para el jengibre valor máximo de 6% C_T; 6,33 % para el tomillo valor máximo de 15% C_T y 3,67 % para el romero valor máximo de 9,0 % C_T. Representan el contenido en sales minerales de las especies. Las cenizas insolubles en ácido se componen de sílice, un elevado porcentaje de estas cenizas indica que la especie vegetal está contaminada con productos térreos, el valor encontrado de cenizas insolubles en ácido son de 0,92 % para el jengibre; 2,23 %

para el tomillo y 0,73 % en el romero valores que se encuentran dentro de los intervalos normales y permisibles para materiales vegetales que es de menos 3% para el tomillo y menos del 5% para jengibre y romero. Las cenizas solubles en agua son de 3,27 % para el jengibre; 4,28 % para el tomillo y 3,11 % en el romero valores que se encuentran dentro de los límites establecidos que es de menos 5 %. (15)(69)

3.1.3 PARÁMETROS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA DROGA VEGETAL

CUADRO No. 8 EXAMEN FÍSICO DE LA DROGA SECA Y MOLIDA DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

DROGA SECA Y MOLIDA	EXAMEN FÍSICO		
	ASPECTO	COLOR	OLOR
JENGIBRE (Rizoma)	NORMAL	MARRÓN	AROMÁTICO, LIG. DULCE
TOMILLO (Hojas y tallos)	NORMAL	VERDE	AROMÁTICO
ROMERO (Hojas)	NORMAL	VERDE	AROMÁTICO

La droga seca y molida de las diferentes especies en estudio presentan un aspecto normal, sin presencia de cuerpos extraños, de impurezas; el olor es característico de la especie presentan un olor aromático y además el jengibre desprende un olor ligeramente dulce y el color es característico de la parte de la planta utilizada marrón debido al rizoma del jengibre, y verde debido a que la parte utilizada de la planta romero y tomillo fueron las hojas. (69)

CUADRO No. 9 DETERMINACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES, COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES, MOHOS Y LEVADURAS POR EL MÉTODO DE PETRIFILM EN LA DROGA SECA Y MOLIDA DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

DETERMINACIONES MICROORGANISMOS	VALORES DE REFERENCIA	VALORES ENCONTRADOS		
	MÁXIMO*	JENGIBRE	TOMILLO	ROMERO
Aerobios mesófilos totales	1 x 10 ⁵ UFC/g	1,0 x 10 ³	1,0 x 10 ⁴	7,0 x 10 ²
Coliformes totales	1 x 10 ³ UFC/g	5,0 x 10 ²	2,0 x 10 ²	4,0 x 10 ²
Coliformes fecales	10 UFC/g	< 1	< 1	< 1
Mohos y levaduras	1 x 10 ³ UFC/g	7,0 x 10 ²	9,0 x 10 ²	2,0 x 10 ²

*FUENTE: CONCENTRACIÓN MÁXIMA OTHER HERBAL MATERIALS FOR INTERNAL USE. WHO GUIDELINES FOR ASSESSING QUALITY OF HERBAL MEDICINES WITH REFERENCE TO CONTAMINANTS AND RESIDUES. OMS 2007.

Los valores reportados se encuentran dentro de los límites aceptables de microorganismos en materiales vegetales de uso interno lo que es indicativo de la calidad de las técnicas de producción y cosecha empleada. OMS. (WHO.2007) (20) (59)

3.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO.

3.2.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO No. 10 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. OCTUBRE-NOVIEMBRE 2011.

PARÁMETROS	JENGIBRE	TOMILLO	ROMERO
COLOR	Café Rojizo	Verde claro intenso	Verde oscuro
OLOR	Aromático, Ligeramente dulce	Aromático, Irritante	Aromático, Irritante
SABOR	Picante	Penetrante	Irritante
ASPECTO	Transparente	Transparente	Ligeramente turbio

Se debe indicar que los parámetros de calidad del extracto fluido no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de cada especie analizada.

3.2.2 PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO No. 11 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS ESPOCH. OCTUBRE-NOVIEMBRE 2011.

DETERMINACIONES	JENGIBRE	TOMILLO	ROMERO
pH	5,30	5,40	4,50
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1,372	1,380	1,380
DENSIDAD RELATIVA (g/mL)	0,867	0,903	0,893
SÓLIDOS TOTALES (%)	4,509	4,307	13,512

En el cuadro No. 11 se muestran los resultados de análisis de caracterización físico-químicos realizados a los extractos fluidos de jengibre, tomillo y romero. pH: los valores encontrados son de 5,30; 5,40 y 4,50; para el jengibre, tomillo y romero respectivamente. Esto sugiere, que los compuestos químicos presentes con características ácidas débiles (fenoles y taninos, flavonoides, ácidos grasos, entre otros), no se modifican; por lo que se conserva su actividad. (52)

El índice de refracción resultó ser de 1,372; 1,380 y 1,380 para el jengibre, tomillo y romero respectivamente este valor nos indica la presencia de sustancias disueltas, pues al compararlo con el del agua (1,333), podemos observar que es mayor, coincidiendo con trabajos realizados (MONTESDEOCA, V. 2010.y ESTRADA, S. 2010). (24)(27)

La densidad relativa resultó ser de 0,867 g/mL; 0,903 g/mL y 0,893 g/mL; para el jengibre, tomillo y romero respectivamente comparándolo con la densidad del solvente empleado en la preparación de la misma (etanol), siendo de 0,789 g/mL; se observa que es mayor. Este valor es indicativo de que el extracto existen sustancias en disolución.(49)

El por ciento de sólidos totales obtenidos correspondió a un 4,5 %; 4,3% y 13,5%; para el jengibre, tomillo y romero respectivamente, podemos plantear que estos valores obtenidos están en correspondencia con la composición química determinada, o sea, indica la presencia de sustancias en el extracto fluido. (52)

En el análisis capilar del extracto fluido de Jengibre se obtuvo una imagen alta, vivamente coloreada, irregularmente dentada, sin aparición de bandas. En el análisis capilar del romero y tomillo se observó también una imagen alta, vivamente coloreada, fue posible distinguir en ella una franja festoneada, una sub-franja, color amarillo, una banda pigmentada de color café claro, los vapores de amoníaco fueron positivos esto revela cambios por alcalinidad. La franja fue translúcida, por lo tanto, las plantas en estudio denotaron la presencia de ácidos grasos y en la banda se observó la presencia de sustancias coloreadas.

3.2.3 REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN, TAMIZAJE FITOQUÍMICO

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

CUADRO No. 12 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO FLUIDO DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*), TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ESPOCH. NOVIEMBRE 2011.

ENSAYO/METABOLITO		TIPO DE EXTRACTO (EXTRACTO FLUIDO)		
		JENGIBRE	TOMILLO	ROMERO
Alcaloides	Dragendorff	(-)	(+)	(+)
	Wagner	(-)	(+)	(+)
Lactonas y Cumarinas	Baljet	(++)	(++)	(++)
Triterpenos y/o esteroides	Libermann	(+)	(++)	(++)
	Burchard	(+)	(++)	(++)
Quinonas	Borntrager	(-)	(++)	(++)
Compuestos fenólicos y/o Taninos	Cloruro férrico	(++)	(+++)	(++)
Flavonoides	Shinoda	(+)	(++)	(+++)
Azúcares reductores	Fehling	(++)	(++)	(++)
Saponinas	Espuma	(-)	(++)	(+++)
Resinas	Resinas	(+)	(++)	(+++)
Aceites y Compuestos grasos	Sudan III	(+++)	(+++)	(+++)
Antocianidinas	Estructuras C6-C3-C6	(+)	(+)	(+)
Mucílagos	Mucílagos	(-)	(+)	(+)

Interpretación de la Tabla:

Donde:

(+) Significa que se obtuvo una baja intensidad de la reacción

(++) Significa que se obtuvo una intensidad moderada de la reacción

(+++) Significa que se obtuvo una intensidad de alta de la reacción

(-) Significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito en el extracto.

En el Cuadro No. 12 se muestran los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico, realizado a los extractos fluidos de jengibre, tomillo y romero, el mismo arrojó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios, como Lactonas y Cumarinas, Triterpenos y Esteroides, Compuestos fenólicos y Taninos, Flavonoides, Azúcares reductores, Resinas, Aceites y Compuestos grasos y Antocianidinas.

Además de los metabolitos mencionados anteriormente los extractos fluidos de romero y tomillo también continen alcaloides, quinonas, saponinas y Mucílagos. En el extracto fluido de jengibre estos ensayos resultaron negativos.

Se comprobó la presencia de flavonoides y aceites en mayor cantidad en todos los extractos estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura para cada una de las especies en estudio según ALONSO, J. 2004 y según ESTRADA, S. 2010, para el tomillo y romero. Los resultados obtenidos para el romero difieren de los resultados reportados según MONTESDEOCA, V. 2010; en relación a la presencia de Triterpenos y esteroides y azúcares reductores ya que en la presente investigación dio positivo la presencia de triterpenos y esteroides y en mayor cantidad la presencia de azúcares reductores. Los resultados obtenidos para el jengibre concuerdan con los reportados según FALCONÍ, M. 2011.(25) A excepción de la presencia de Triterpenos y esteroides ya en esta investigación dio positivo.

La presencia de compuestos como flavonoides, compuestos fenólicos, Triterpenos y Esteroides, saponinas y mucílagos en su composición justifican las propiedades antiinflamatorias que registran estas especies en bibliografía. (31)

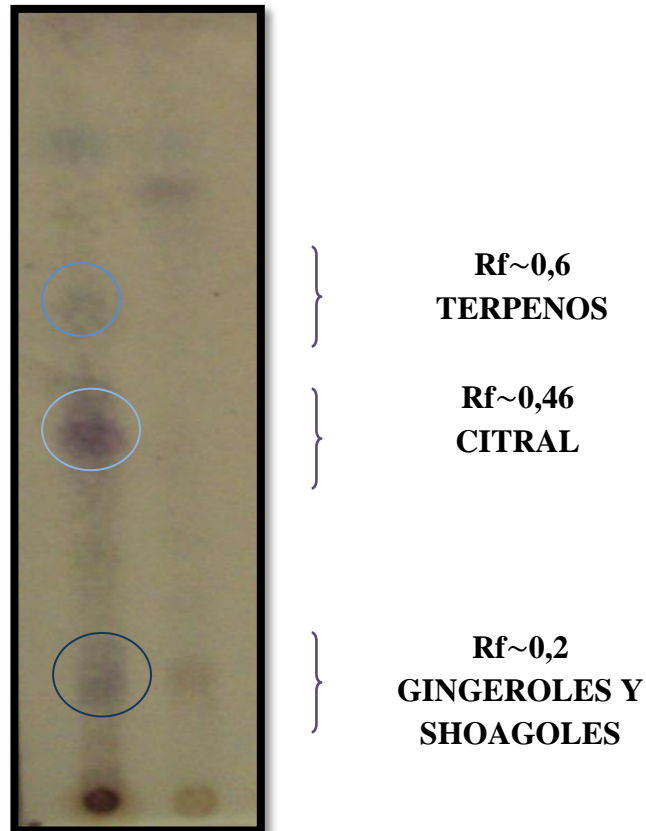
3.2.4 IDENTIFICACIÓN DEL COMPUESTO QUÍMICO REPRESENTATIVO

En el caso de las fracciones de los extractos podemos apreciar la aparición de manchas bastante definidas, de coloración azul intenso al revelar Vainilla: H₂SO₄; se determina los respectivos Rf según Wagner. (23)

Adsorbente: Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

Sistema de solventes: Tolueno: Acetato de etilo (90:10)

Revelado: Ácido sulfúrico – vainillina.

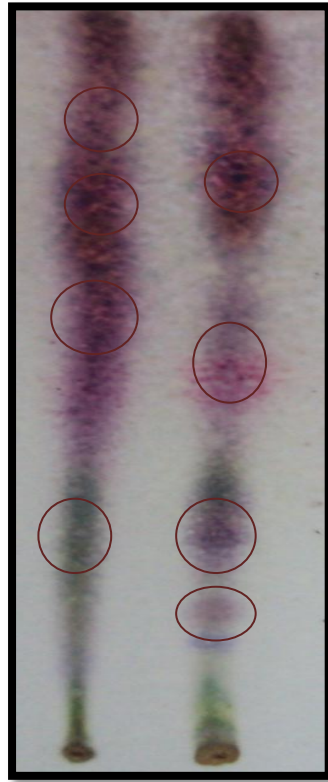


FOTOGRAFÍA No. 4 PLACA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*).

Jengibre desarrolla principios picantes de color azul-violeta con un Rf = 0,2 debido a los gingeroles y shoagoles. Rf = 0,46 mancha de color violeta-azul corresponde al citral que se encuentra comprendido entre Rf 0,45-0,5.

Rf = 0,6 Terpenos muestra un mancha de color que va de azul-violeta. (23)

Adsorbente: Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck)
Sistema de solventes: Tolueno: Acetato de etilo (93:7)
Revelado: Ácido sulfúrico – vainillina.



Rf ~ 0,7-0,8.
ESTERES
TERPÉNICOS
(BORNYL Y
ACETATO DE
LINALYL)

Rf ~ 0,55
TIMOL
CARVACROL.

Rf~0,15 - 0,34
ALCOHOLES TERPÉNICOS
(BORNEOL, GERANIOL,
LINALOOL)

FOTOGRAFÍA No. 5 PLACA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*)

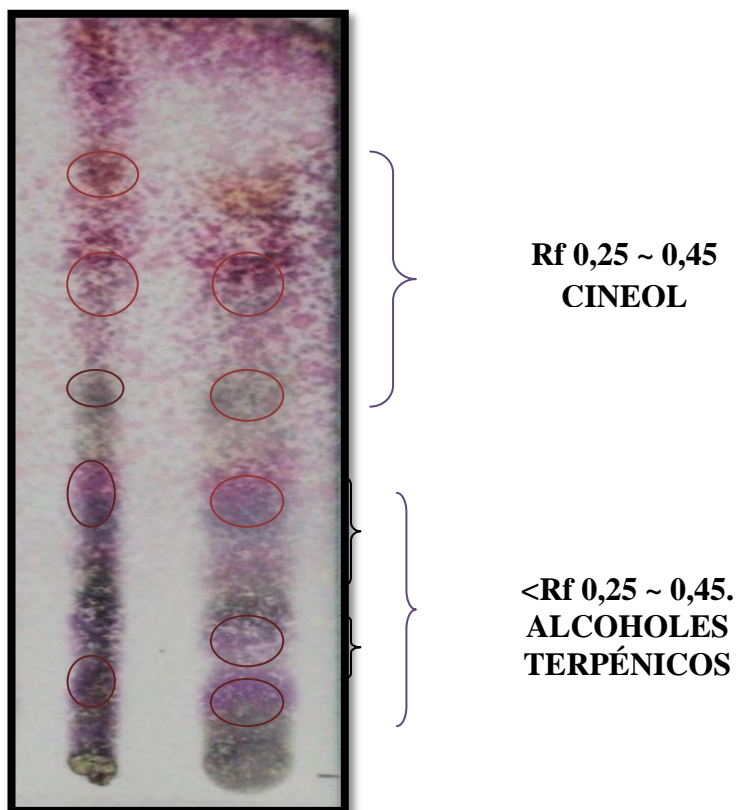
- 1. Residuo del extracto clorofórmico de Tomillo**
- 2. Residuo del extracto metanólico de Tomillo**

Rf = 0,22; 0,32; 0,34 manchas de color violeta. Estos Rf corresponde a los alcoholes terpénicos (borneol, geraniol, linalool) con Rf comprendido de 0,15-0,35.

Rf = 0,54; 0,58 manchas de color rosa-violeta Rf ~ 0,55 corresponde al timol y el carvacrol.

Rf = 0,73; 0,78; 0,81 manchas de color violeta corresponde a los esteres terpénicos (bornyl y acetato de linalyl) Rf comprendido 0,7-0,8. (23)

Adsorbente: Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck)
Sistema de solventes: Tolueno: Acetato de etilo (90:10)
Revelado: Ácido sulfúrico – vainillina.



FOTOGRAFÍA No. 6 PLACA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*).

1. Residuo del extracto clorofórmico de Romero
2. Residuo de la extracción con tolueno de Romero

Rf = 0,01; 0,06; 0,13; 0,21; 0,22; 0,29 manchas de color violeta-gris corresponde a los alcoholes terpénicos en Rf inferior al cineol que comprende el rango de Rf 0,25 ~ 0,45.

Rf = 0,35; 0,37; 0,43; manchas de color azul-violeta Rf 0,25 ~ 0,45 corresponde al cineol. (23)

3.2.5 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LAS FORMULACIONES EN ESTUDIO

CUADRO No. 13 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE DISTINTAS FORMULACIONES DE JENGIBRE, TOMILLO, ROMERO Y NAPROXENO SÓDICO SOBRE EL EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA EN RATAS. VALORES MEDIOS DE LA DIFERENCIA DEL GROSOR DE LA ALMOHADILLA PLANTAR RESPECTO AL INICIO DEL ENSAYO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. DICIEMBRE 2011.

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 0 HORAS				
TRATAMIENTO	R ₁ (cm ³)	R ₂ (cm ³)	R ₃ (cm ³)	\bar{X} VOLUMEN (cm ³)
T ₁	19,09	21,14	20,32	20,18
T ₂	18,89	19,70	20,32	19,64
T ₃	18,32	21,14	18,89	19,45
T ₄	21,14	19,70	18,47	19,77
T ₅	21,14	18,32	20,48	19,98

T1= Formulación 1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg

T2= Formulación 2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg

T3= Formulación 3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg

T4= Grupo Control Carragenina 0,5%

T5= Medicamento de Referencia Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg

Donde:

B1=Jengibre 14,3mg/Kg

B2= Tomillo 42,9mg/Kg

B3=Romero 28,6mg/Kg

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 1 HORAS				
Tratamiento	R ₁ (cm ³)	R ₂ (cm ³)	R ₃ (cm ³)	\bar{X} Volumen (cm ³)
T ₁	21,91	22,62	23,33	22,62
T ₂	20,32	22,62	21,80	21,58
T ₃	18,32	21,14	18,89	19,45
T ₄	25,74	24,15	22,64	24,18
T ₅	21,14	18,32	20,48	19,98

TIEMPO DE ADMINISTRACION 2 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	23,40	25,74	26,54	25,22
T₂	20,32	21,14	21,80	21,08
T₃	21,80	21,14	22,46	21,80
T₄	31,75	32,71	29,96	31,47
T₅	21,14	18,32	21,14	20,20

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 4 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	29,83	32,57	32,71	31,70
T₂	20,94	22,62	24,03	22,53
T₃	26,54	24,15	27,34	26,01
T₄	37,43	44,89	37,43	39,91
T₅	24,15	20,94	24,15	23,08

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 6 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	36,29	36,29	40,62	37,73
T₂	23,12	24,15	26,42	24,56
T₃	28,22	27,37	30,87	28,82
T₄	49,88	53,73	49,88	51,16
T₅	24,15	24,91	29,05	26,04

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 8 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	38,23	38,23	42,73	39,73
T₂	25,66	27,37	29,08	27,37
T₃	29,96	29,05	32,71	30,58
T₄	52,28	54,74	52,28	53,10
T₅	25,74	24,91	30,79	27,14

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 10 HORAS

Tratamiento	R ₁ (cm ³)	R ₂ (cm ³)	R ₃ (cm ³)	\bar{X} Volumen (cm ³)
T ₁	40,21	36,29	40,62	39,04
T ₂	24,03	25,74	27,34	25,70
T ₃	31,75	30,79	34,61	32,38
T ₄	48,49	54,74	52,28	51,84
T ₅	25,74	28,22	34,41	29,46

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 12 HORAS

Tratamiento	R ₁ (cm ³)	R ₂ (cm ³)	R ₃ (cm ³)	\bar{X} Volumen (cm ³)
T ₁	38,23	34,41	40,62	37,75
T ₂	22,46	24,15	25,66	24,09
T ₃	29,96	29,05	32,71	30,58
T ₄	43,98	43,98	43,98	43,98
T ₅	27,37	27,37	30,79	28,51

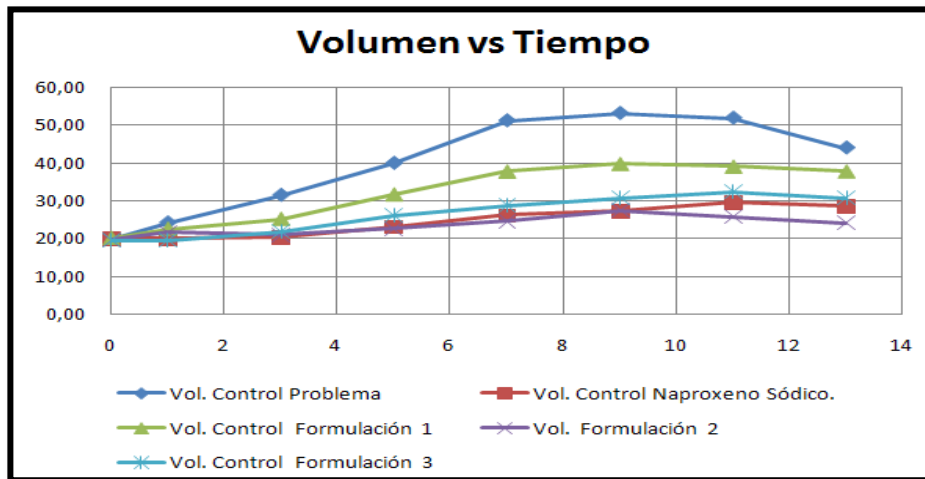


GRÁFICO No. 1 VOLUMENES REGISTRADOS DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

Los mayores volúmenes desarrollados durante todo el ensayo, se observaron en el grupo control, teniendo un valor máximo a la sexta hora que coincide con al liberación de las prostaglandinas con un 51,16 cm³. En cambio en el grupo de Naproxeno sódico presenta un volumen de 26,04 cm³. Con respecto a los grupos tratados con las formulaciones: F1 (37,73 cm³); F2 (24,56 cm³) y F3 (28,82 cm³) presentaron volúmenes inferiores a los desarrollados por el grupo control. Por lo que estos presentan actividad antiinflamatoria ya que disminuyen el edema producido por la Carragenina.

3.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos que se muestran a continuación se obtuvieron utilizando la fórmula de porcentaje de Inflamación, descrita anteriormente en la metodología. Para elaborar las gráficas se utilizó el programa Microsoft office Excel 2007.

El análisis estadístico de los resultados se realizó comparando los promedios de cada uno de los grupos con sus respectivos grupos control utilizando la prueba de ANOVA y el test de Tukey para determinar qué valores presentaban una diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al grupo control.

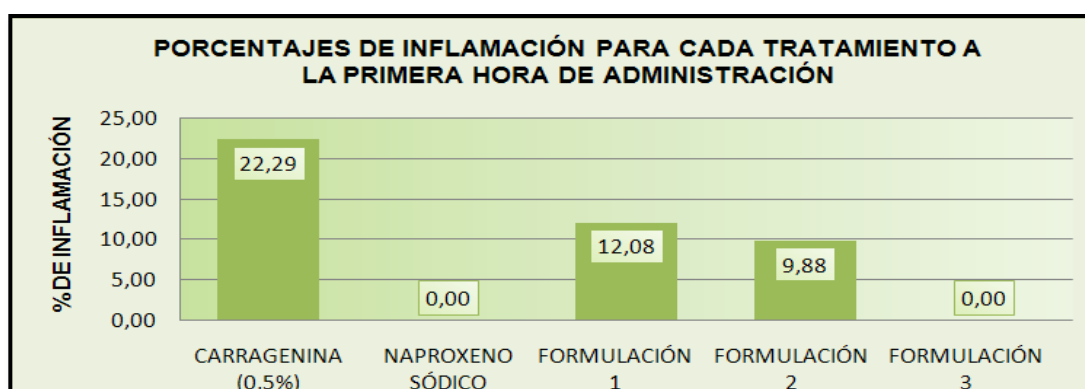


GRÁFICO No. 2 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA PRIMERA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

De los resultados anteriormente mostrados el porcentaje de inflamación a la primera hora se obtuvo un valor mayor en el grupo tratado solo con el agente inflamatorio Carragenina 0,5% (22,29%), la formulación 1 (12,08) y un menor porcentaje de Inflamación para el medicamento de referencia Naproxeno sódico 100 mg (0,0%) y formulación 3 (0,0%). A la primera hora hay un efecto antiinflamatorio similar entre el Naproxeno Sódico y la formulación 3.

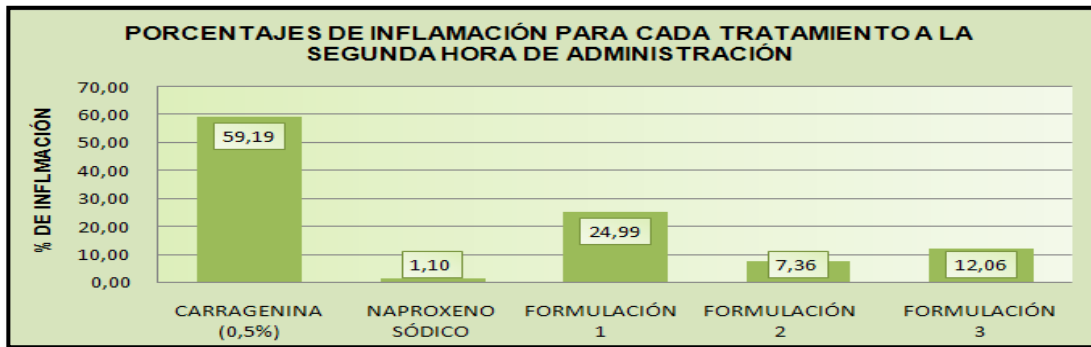


GRÁFICO No. 3 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA SEGUNDA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

A la segunda hora de administración el porcentaje de Inflamación para el grupo control se incremento (59,19%), en comparación al grupo tratado con Naproxeno sódico que mantuvo su efecto antiinflamatorio (1,10%), las formulaciones en estudio también mantuvieron su efecto antiinflamatorio registraron un 24,99 % para la F1; 12,06 para la F3y 7,36 para las formulación 2 estos valores son menores al porcentaje de Inflamación del grupo control. Se puede apreciar que la F2 presentó un porcentaje de inflamación menor en comparación con las demás formulaciones esta es similar al porcentaje de Inflamación que presentó el medicamento de referencia.

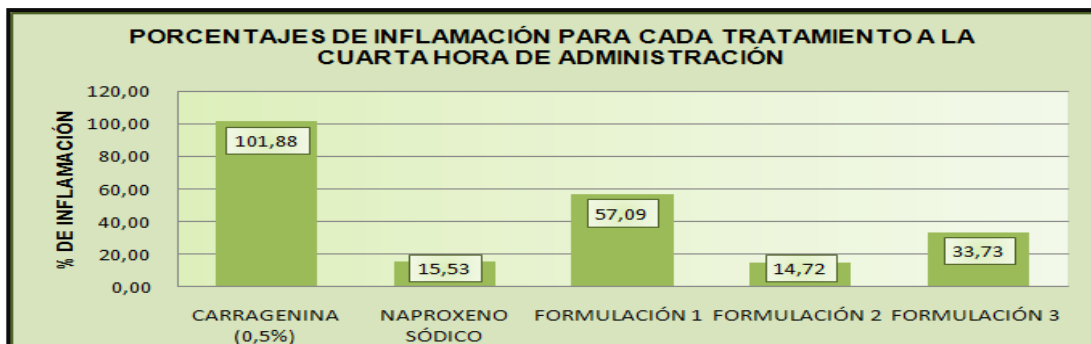


GRÁFICO No. 4 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA CUARTA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

A la cuarta hora el porcentaje de Inflamación para el grupo control aumento a 101,88%, en comparación al Naproxeno sódico que registra tan solo un 15,53% seguido de 14,72 %; 33,73 % y 57,09 % de inflamación para las formulaciones 2, 3 y 1 respectivamente.

La formulación 2 presentó un efecto antiinflamatorio similar que el Naproxeno sódico a esta hora.

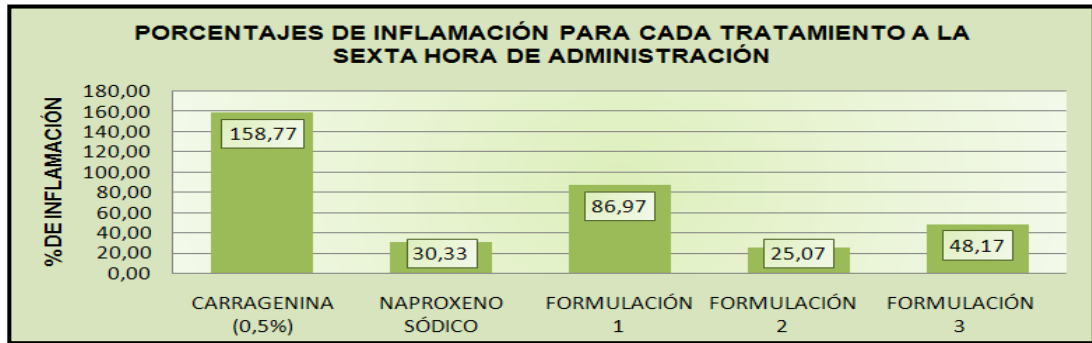


GRÁFICO No. 5 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA SEXTA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

A la sexta hora de administración se manifiesta en forma marcada los cuatro signos cardinales de la inflamación ya que aumenta el rubor (coloración roja); tumor (hinchazón); calor y dolor. El calor y rubor se deben a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el foco. El tumor se produce por el edema y acumulo de células inmunes, mientras que el dolor es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor. (26) (36)

El porcentaje de inflamación del medicamento de referencia (30,33%) es similar al porcentaje de inflamación de la formulación 2 (25,07%), quiere decir que tiene un similar efecto antiinflamatorio.

En comparación de las demás formulaciones que presentaron porcentajes de inflamación mayores de 48,17 % para la formulación 3 y de 86,97% de inflamación para la formulación 1 este tiene un comportamiento similar al grupo control que presento un porcentaje de inflamación de 158,77 %.

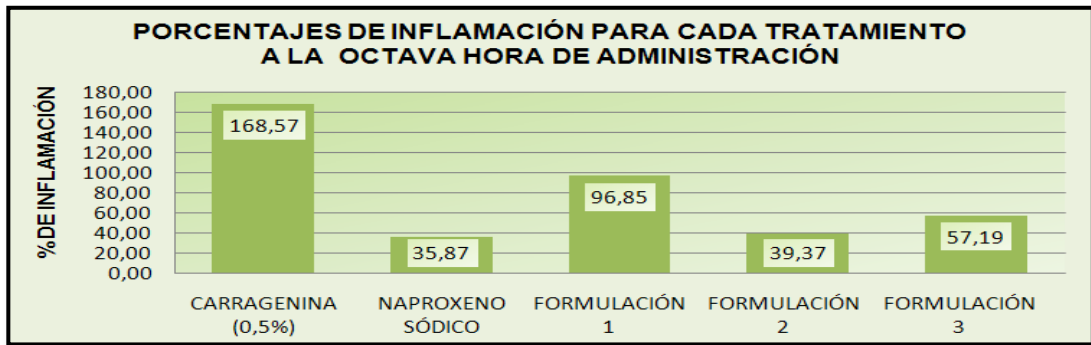


GRÁFICO No. 6 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA OCTAVA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

De igual manera se aprecia un comportamiento similar que en la hora sexta. Se mantiene el efecto antiinflamatorio en los grupos tratados con Naproxeno sódico (35,87%) y la formulación 2 (39,37%).

En cambio la actividad antiinflamatoria en la Formulación 1 (96,85%) y 3 (57,19%) decrece, pero es más marcada en la formulación 1, pero estas no sobrepasan la inflamación producida en el grupo control (168,57 %).

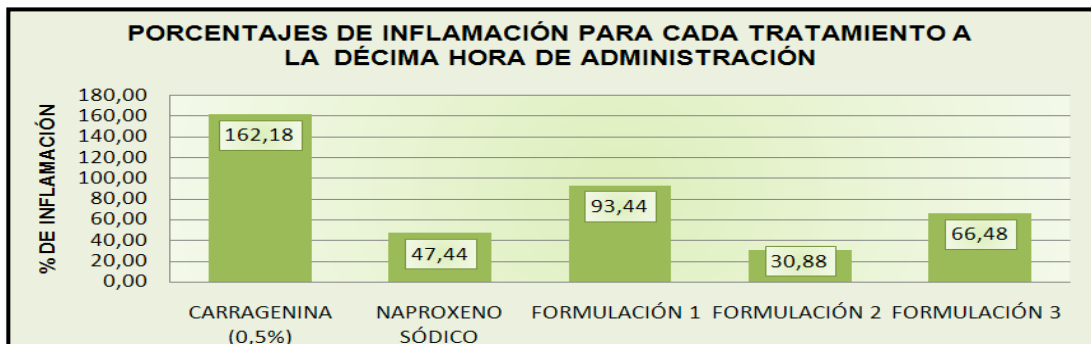


GRÁFICO No. 7 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA DÉCIMA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

A partir de la décima hora de administración se mantiene constante el volumen de la región subplantar de la rata. No hay incrementos, más bien comienza a disminuir el edema producido por la Carragenina 0,5%. Se observa que el porcentaje de inflamación del grupo control es menor que la hora anterior (162, 18 %) de igual manera comienza a

disminuir el efecto antiinflamatorio del Naproxeno sódico (47,44 %), pero el efecto de las formulaciones se mantiene constante F2 (30,88 %), F3 (66,48 %) y .F1 (93,44 %).

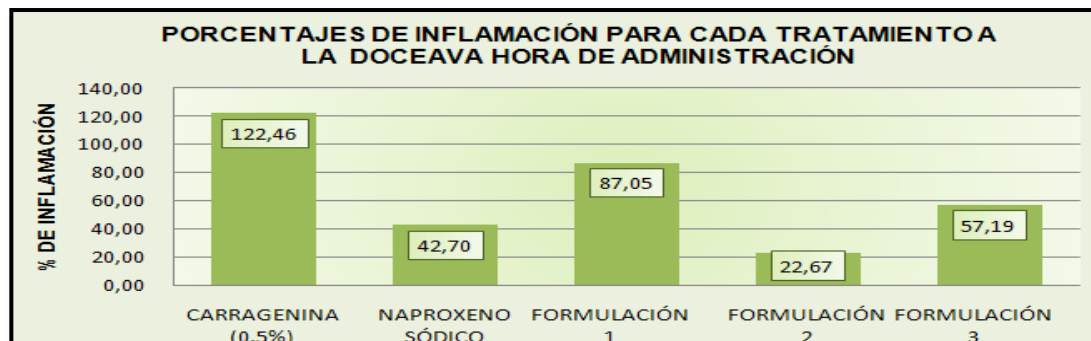


GRÁFICO No. 8 EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO. F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg SOBRE EL EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA 0,5 % EN RATAS A LA DOCEAVA HORA DE ADMINISTRACIÓN. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

Se mantiene constante el volumen de la región subplantar de la rata como en la hora anterior. No hay incrementos, se observa que el porcentaje de inflamación del grupo control es menor (122, 46 %) de igual manera comienza a disminuir el efecto antiinflamatorio del Naproxeno sódico (42,70 %), pero el efecto de las formulaciones se mantiene constante F2 (22,67 %), F3 (57,19 %) y .F1 (87,05 %).

En las plantas medicinales se encuentran un grupo importante de metabolitos secundarios con propiedades antiinflamatorias entre los que se encuentran fenoles, flavonoides y esteroides. Estos compuestos ejercen su acción farmacológica interfiriendo la producción de diferentes mediadores químicos del proceso inflamatorio. (29)

Entre los estudios realizados se pueden citar: extracto fluido de caisimón de anís (*Piper auritum*) dosis de 816,09 mg/kg provocó una inhibición en la formación del edema en 50 % (75); tintura de salvia de playa (*Pluchea carolinensis Jacq*) más del 30 % de inhibición en el proceso agudo y en la fase crónica (66); las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*) presenta en su composición aceites esenciales cuyo principal constituyente es el cineol o eucaliptol (éter óxido terpénico) ha demostrado que extractos acuosos de esta planta presentan propiedades antiinflamatorias (44); extracto oleoso del *Zingiber officinale* Roscoe dosis de 6,5 mL/Kg presentó un porcentaje de

inhibición 38,6 % (44); extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae) a concentraciones superiores a 100 ppm, presentó un 45,3 % de inhibición del edema (55); extractos de *Musa* sp ABB (plátano burro) dosis de 102 mg/kg de peso produjo una inhibición del edema del 40 %.(43); extracto alcohólico *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (canilla de venado) evidenció un 50 % de inhibición (57); jugo de *Morinda citrifolia* al 60 % dosis 20mL/Kg produjo un 29,28% de Inhibición de la inflamación. (61) Por lo que se estableció que la formulación 2 constituida por extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero produjo un porcentaje de inhibición del edema ligeramente mayor de 51,99% comparado con los estudios mencionados, se puede concluir que presentó un efecto antiinflamatorio moderado pero sin causar reacciones adversas por su consumo sobre todo daños en la mucosa gástrica.

Los resultados del tamizaje fitoquímico reportados en estos estudios de actividad antiinflamatoria todos arrojaron la presencia de flavonoides, esteroides y triterpenos. Es importante el reconocimiento de los metabolitos esenciales para intentar establecer posibles correspondencias entre sustancias y acciones farmacológicas de la planta. En el caso específico de la acción antiinflamatoria, pudiera relacionarse con la presencia de los mismos. (44) Los extractos en estudio arrojaron la presencia de estos compuestos además de saponinas y mucílagos reportados con actividad antiinflamatoria.

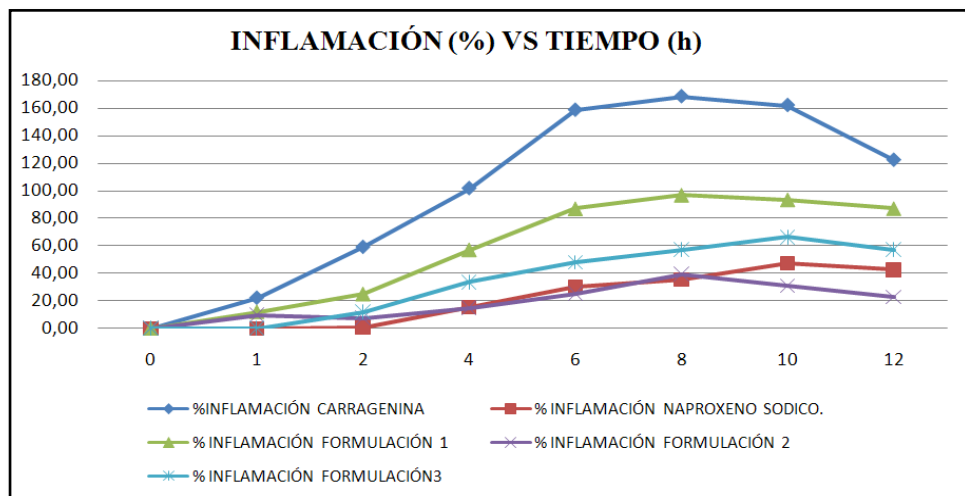


GRÁFICO No. 9 PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DEL EDEMA PLANTAR DE LAS FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg. ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

Los mayores porcentajes de inflamación durante todo el ensayo, se observaron en el grupo control al cual se le administró solo agua destilada, teniendo su respuesta vascular máxima a la sexta hora que coincide con la liberación de las prostaglandinas con un 158,77 % de inflamación. En el grupo tratado con Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg, fármaco de referencia, se observó una disminución del porcentaje de inflamación en todos los tiempos evaluados, a la sexta hora presenta tan solo un 30,33% de inflamación. La respuesta observada para el Naproxeno sódico estuvo en correspondencia con lo informado en la bibliografía, según su mecanismo de acción. Esta sustancia inhibe la vía de las ciclooxigenasas y por tanto, inhibe la formación y liberación de las prostaglandinas que en esta fase adquieren la máxima manifestación principalmente por inhibición de PGE_2 . (33)

Con respecto a los grupos tratados con las formulaciones de Extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero proporciones F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg se observó que los valores de inflamación logrados, en todos los tiempos, fueron inferiores a los desarrollados por el grupo control, existiendo diferencia significativa ($\alpha < 0,05$).

El porcentaje de inflamación a la sexta hora para el medicamento de referencia (30,33%) es similar al porcentaje de inflamación de la formulación 2 (25,07%), quiere decir que tiene un similar efecto antiinflamatorio. En comparación de las demás formulaciones que presentaron porcentajes de inflamación mayores de 48,17 % para la formulación 3 y de 86,97% de inflamación para la formulación 1 este tiene un comportamiento similar al grupo control que presentó un porcentaje de inflamación de 158,77 %.

La habilidad de reducir el edema producido por la carragenina mostrada por las formulaciones de extractos fluidos Jengibre, Tomillo y Romero es debido a que contienen en su composición sustancias que inhiben la síntesis de prostaglandinas así como secuestrantes de radicales de oxígeno y de esta manera disminuyen la respuesta inflamatoria. Por esta razón la formulación 2 tiene un efecto antiinflamatorio mejor ya que contiene proporciones iguales de Tomillo y Romero a estas especies se le atribuye una potente actividad antioxidante debido a la presencia del ácido rosmarínico, además de presentar en su composición saponinas y mucílagos. (31)

En forma descendente el efecto antiinflamatorio le sigue la Formulación 3 que contiene proporciones iguales de las especies, estas se refuerza la actividad ya todas contiene en su composición metabolitos secundarios que son potentes inhibidores de la ciclooxigenasas y liposidasas que son precursores de la producción de ácido araquidónico y por último la formulación 1 que contiene una dosificación mayor de Jengibre pero con un efecto antiinflamatorio poco eficaz ya que este grupo predominan porcentajes altos de inflamación semejantes a los desarrollados por el grupo control.

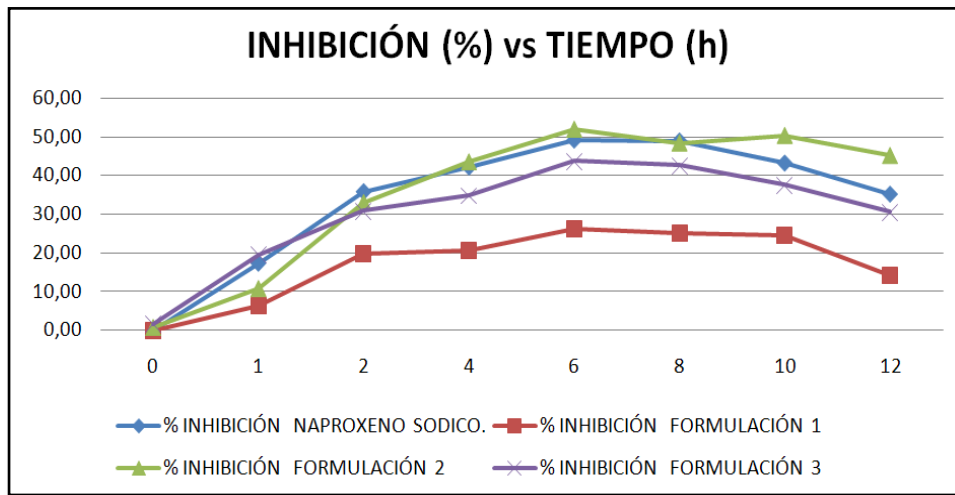


GRÁFICO No. 10 PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DEL EDEMA PLANTAR DE DISTINTAS FORMULACIONES DE EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO F1 (B1: 28,6; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg; F2 (B1: 14,3; B2: 85,8; B3: 57,2) mg/Kg Y F3 (B1: 14,3; B2: 42,9; B3: 28,6) mg/Kg Y NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg. PORCENTAJES DE REDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR RESPECTO AL GRUPO CONTROL (CARRAGENINA 0,5 %). ESPOCH NOVIEMBRE 2011.

A partir de los porcentajes de inhibición del edema obtenido con la Carragenina podríamos sugerir que las formulaciones de Jengibre, Tomillo y romero inhiben la liberación o acción de las prostaglandinas, resultando poseer un efecto antiinflamatorio similar al Naproxeno sódico. Esta actividad podría estar relacionada con la presencia en estas formulaciones de flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas identificadas en el tamizaje fitoquímico que se les atribuye actividad antiinflamatoria. Resultando ser grupos homogéneos con el grupo tratado con el Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg. El grupo que presentó porcentajes de Inhibición similares al medicamento fue la formulación 2, luego la formulación 3 y por último la formulación 1 que presentó porcentajes de inhibición bajos.

3.2.7 HIPÓTESIS ESTADÍSTICA.

Hipótesis nula: Que no existe diferencia significativa en el efecto antiinflamatorio entre las formulaciones, el control y el medicamento de referencia aplicado.

Hipótesis Alternativa: Que al menos dos formulaciones aplicadas tiene diferente efecto antiinflamatorio.

Nivel de Significancia: $\alpha = 0.05$.

Región Crítica: $f_{TABULADA} > 2, 64$ con $v_1 = 4$ y $v_2 = 35$ grados de libertad. $f_{CALCULADA} = 6,192$

CUADRO No. 14 ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN.

DATOS	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	35630,329	4	8907,582	6,192	0,001
Intra-grupos	50350,022	35	1438,572		
Total	85980,351	39			

Esto quiere decir que efectivamente aceptamos que hay diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de inflamación desarrollados de las tres formulaciones, el medicamento de referencia y el grupo control (las diferencias no han sido causadas por el azar).

Decisión: Rechazar H_0 y concluir que las formulaciones aplicadas no tienen el mismo efecto antiinflamatorio. El valor P para $f = 6,192$ le corresponde un nivel de significancia de 0,001.

Aplicando la prueba de Tukey para ver cuál es la formulación con similar actividad antiinflamatoria con respecto al medicamento de referencia Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg.

CUADRO No. 15 RESULTADO ESTADÍSTICO PARA GRUPOS HOMOGÉNEOS PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN APLICANDO TUKEY

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
% INFLAMACIÓN FORMULACIÓN 2	8	18,7438	
% INFLAMACIÓN NAPROXENO SODICO.	8	21,6212	
% INFLAMACIÓN FORMULACIÓN3	8	34,3525	
% INFLAMACIÓN FORMULACIÓN 1	8	57,3088	57,3088
%INFLAMACIÓN CARRAGENINA	8		99,4175
Sig.		,272	,196

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,000.

Resultados: Vemos que las formulaciones con actividad antiinflamatoria similar con el medicamento de referencia Naproxeno sódico es la Formulación 2 y 3 ya que presentaron porcentajes de Inflamación menores al grupo control y similares al medicamento de referencia. La formulación 1 su actividad antiinflamatoria es menor ya que presentó porcentajes de Inflamación altos como los que se desarrollaron en el grupo control.

Se realizo también el Análisis Estadístico para la Sexta Hora de inducción del edema por la carragenina ya que esta hora ocurre la respuesta vascular máxima que coincide con la fase mediada por las prostaglandinas PGE_1 , PGE_2 y PGF_2

CUADRO No. 16 ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DESARROLLADOS A LA SEXTA HORA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	35384,073	4	8846,018	39,021	,000
Intra-grupos	2266,991	10	226,699		
Total	37651,063	14			

CUADRO No. 17 RESULTADO ESTADÍSTICO PARA GRUPOS HOMOGÉNEOS PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN SEXTA HORA APLICANDO TUKEY

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
FORMULACIÓN 2	3	24,9791		
NAPROXENO SÓDICO	3	39,8028		
FORMULACIÓN 3	3	43,2401	43,2401	
FORMULACIÓN 1	3		80,9722	
CARRAGENINA	3			159,5537
Sig.		,593	,070	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 18 ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DESARROLLADOS A LA SEXTA HORA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	904,939	3	301,646	7,246	,011
Intra-grupos	333,050	8	41,631		
Total	1237,989	11			

CUADRO No. 19 RESULTADO ESTADÍSTICO PARA GRUPOS HOMOGÉNEOS PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DESARROLLADOS A LA SEXTA HORA APLICANDO TUKEY

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FORMULACIÓN 1	3	28,5155	
NAPROXENO SODICO	3	45,2457	45,2457
FORMULACION 3	3		45,7358
FORMULACIÓN 2	3		51,9110
Sig.		,052	,607

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

La prueba de Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos con grado de significancia logrando establecer que el efecto antiinflamatorio del naproxeno sódico y los grupos tratados con las formulaciones 2 y 3 tiene la misma eficacia como antiinflamatorio.

A los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza de una vía y se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y el control ($p < 0.05$), posteriormente se realizó la prueba de Tukey, obteniéndose que el efecto antiinflamatorio de mayor a menor grado quedó de la siguiente manera: Formulación 2 (157,3 mg/Kg) > Formulación 3 (85,8 mg/Kg) > Formulación 1 (100,1mg/Kg); utilizando como fármaco de referencia Naproxeno sódico a 12,40 mg/Kg. Por lo que se comprueba la hipótesis de que mezclas de extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero tiene una actividad antiinflamatoria similar al naproxeno sódico ya que constituyen grupos homogéneos. La formulación 2 presentó un efecto antiinflamatorio más pronunciado por lo que se podría emplear esta dosificación para realizar un fitofármaco de fácil administración.

3.2.8 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LA FORMULACIÓN 2.

Grupo Experimental: Formulación 2 (B1: 181,82; B2: 1090,91; B3: 727,27) mg/Kg

Grupo Testigo Agua Destilada 15mL/Kg

Donde:

B1 =Jengibre 181,82 mg/Kg

B2 = Tomillo 1090,91mg/Kg

B3 = Romero 727,27mg/Kg

CUADRO No. 20 PRUEBAS DE EVALUACIÓN: OBSERVACIÓN DE SIGNOS CLÍNICOS CADA 30-60-120-240-360 min. DEL 15 DE DICIEMBRE AL 28 DE DICIEMBRE DEL 2011 BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA.

DOSIS	T2: B1: 1, B2:2, B3:2	Agua destilada 15mL/Kg
Lote N° de animales	EXPERIMENTACIÓN	TESTIGO
Peso promedio (g)	197,15	202,3
PRUEBAS DE EVALUACIÓN: DÍA 1.		
Actividad general	4	4
Grito	0	0
Irritabilidad	0	0
Respuesta al toque	4	4
Huida	4	4
Patas posteriores	0	0
Enderezamiento	4	4
Convulsiones	0	0
Lagrimación	0	0
Salivación	0	0
Micción	0	0
Hipotermia	0	0
Muerte	0	0

CUADRO No. 21 PRUEBAS DE EVALUACIÓN DE SIGNOS CLÍNICOS DURANTE 14 DÍAS. DEL 15 DE DICIEMBRE AL 28 DE DICIEMBRE DEL 2011 BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA.

DOSIS	T2: B1: 1, B2:2, B3:2	Agua destilada 15mL/Kg
Lote N° de animales	EXPERIMENTACIÓN	TESTIGO
Peso promedio (g)	198,25	200,65
PARÁMETROS DE EVALUACIÓN: DÍA 14		
Actividad general	4	4
Grito	0	0
Irritabilidad	0	0
Respuesta al toque	4	4
Huida	4	4
Patas posteriores	0	0
Enderezamiento	4	4
Convulsiones	0	0
Lagrimación	0	0
Salivación	0	0
Micción	0	0
Hipotermia	0	0
Muerte	0	0

CUADRO No. 22 EVOLUCIÓN DE LA MASA CORPORAL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO (GRUPO EXPERIMENTAL)

Grupo Experimental	Masa corporal (g)		
	Día 1	Día 7	Día 14
2000 mg/Kg			
1	186,7	191,1	187,6
2	197,3	198,3	198,4
3	193,2	193,1	201,4
4	195,7	200,5	196,9
5	208,7	208,4	205,3
6	201,3	200,4	199,9

CUADRO No. 23 EVOLUCIÓN DE LA MASA LA MASA CORPORAL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO (GRUPO TESTIGO)

Grupo Testigo	Masa corporal (g)		
	Día 1	Día 7	Día 14
Agua destilada 15mL/Kg			
1	207,8	210,7	203,9
2	196,8	201,3	197,4
3	202,3	206,0	200,65

TABLA No. 4 RANGO DE MASA CORPORAL CON RELACIÓN A LA EDAD EN SEMANAS DE LA ESPECIE Y LÍNEA DEL MÓDELO BIOLÓGICO

Edad (semanas)	Masa Corporal (g)
7-8	180-200
8-9	200-220
9-10	220-240

FUENTE: BERMUDEZ, D. et.al. 2007.

Como resultado de la administración de una dosis única de 2000 mg/Kg de la formulación 2 se obtuvo un 100% de supervivencia. Las observaciones sistemáticas diarias no mostraron evidencias de ningún signo de toxicidad en los grupos tratados. (Cuadro No. 20, 21)

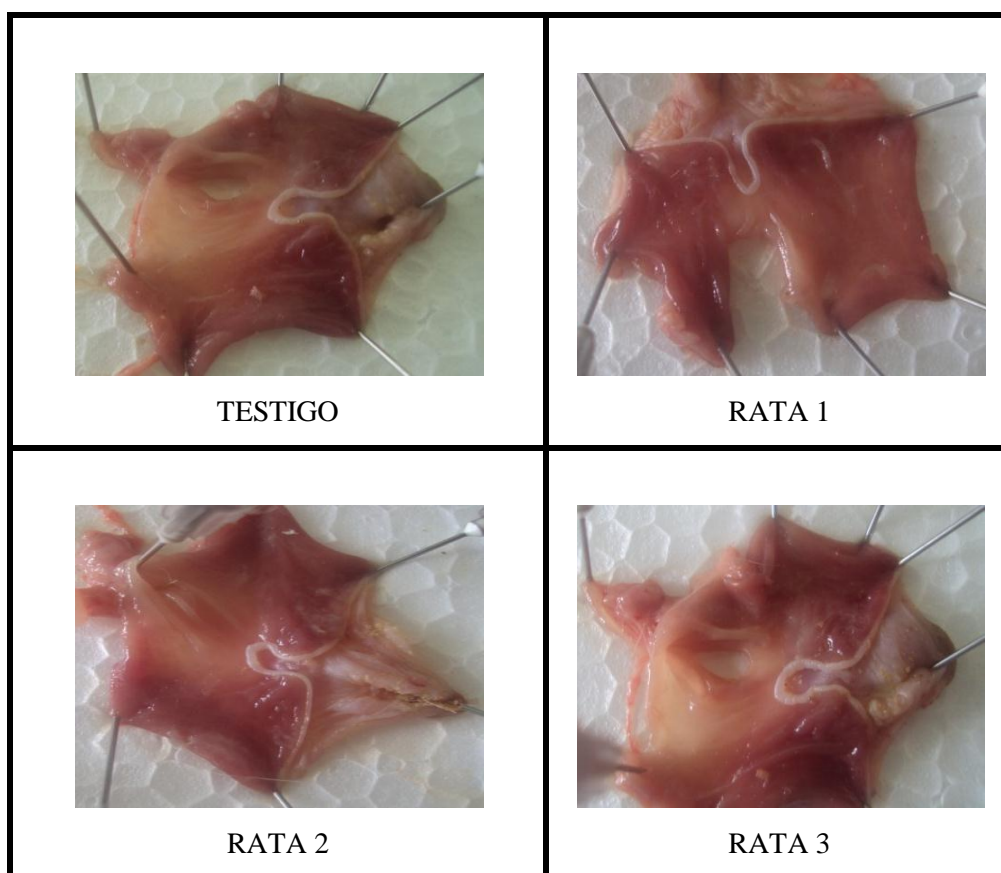
Por otra parte el análisis de los pesos corporales mostró un comportamiento normal a lo largo de la experiencia, no existiendo diferencia pronuncia esta se encuentra dentro del peso corporal normal de una rata de 9 semanas de edad que va desde 200-220 g de peso corporal. (Tabla No. 4)

Los resultados obtenidos para los 7 y los 14 días indicaron que el tratamiento no ejerce ningún efecto en la variación de los pesos corporales. Finalmente se realizó el análisis macroscópico de los órganos (estómago, hígado y riñones) no observándose afectación en ninguno de ellos. (Cuadro No. 22, 23)

3.2.9 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



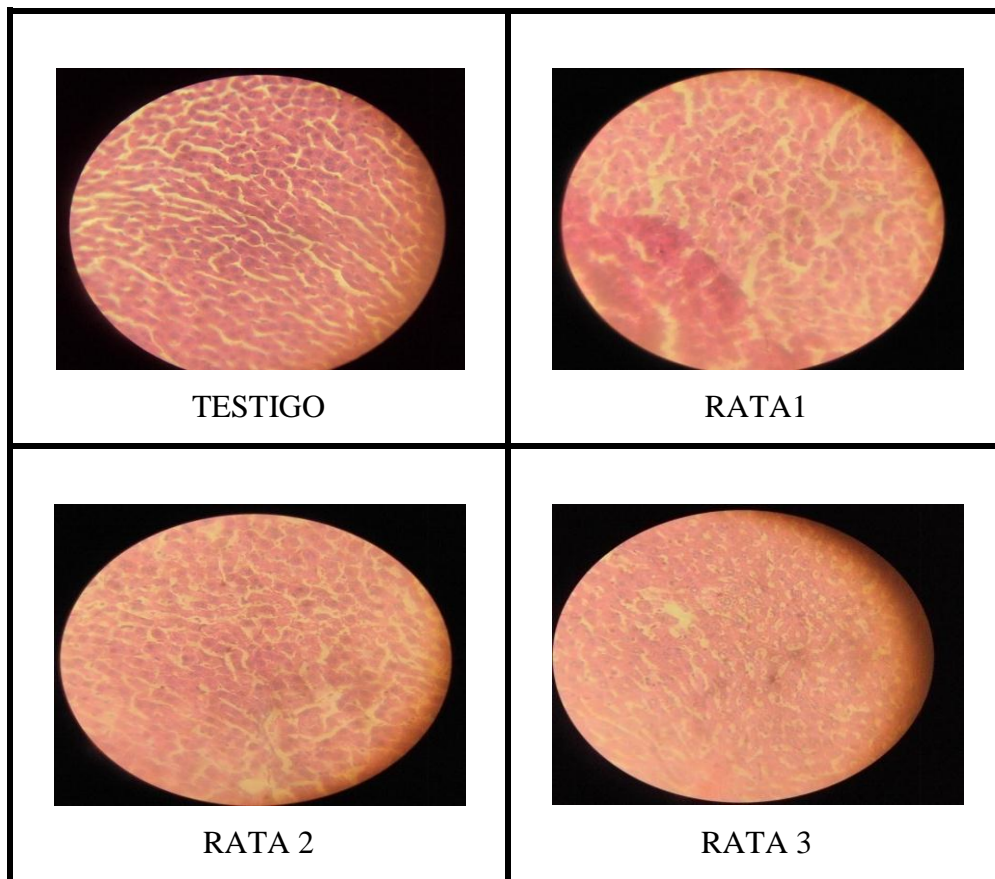
FOTOGRAFÍA No. 7 NECROPSIA DE LOS EJEMPLARES DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y TESTIGO DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA A DOSIS FIJAS 2000 mg/Kg DE LA FORMULACIÓN 2, REALIZADO EN EL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. DICIEMBRE 2011



FOTOGRAFÍA No. 8 EXTENSIÓN DE LOS ESTÓMAGOS DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y TESTIGO DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA A DOSIS ÚNICA 2000mg/Kg.

Extracción y lavado del estómago, abierto por la curvatura mayor. El estómago testigo y del ensayo como se puede apreciar no presenta ninguna anomalía, la coloración del mismo es normal. Algunos agentes terapéuticos antiinflamatorios disminuyen los síntomas de la inflamación al interrumpir la cadena metabólica de los prostanoídes y pueden causar colateralmente lesiones gástricas. La administración en forma prolongada de la formulación 2 no provocó alteraciones en la mucosa de los estómagos de las ratas como se puede apreciar en la Fotografía No.8.

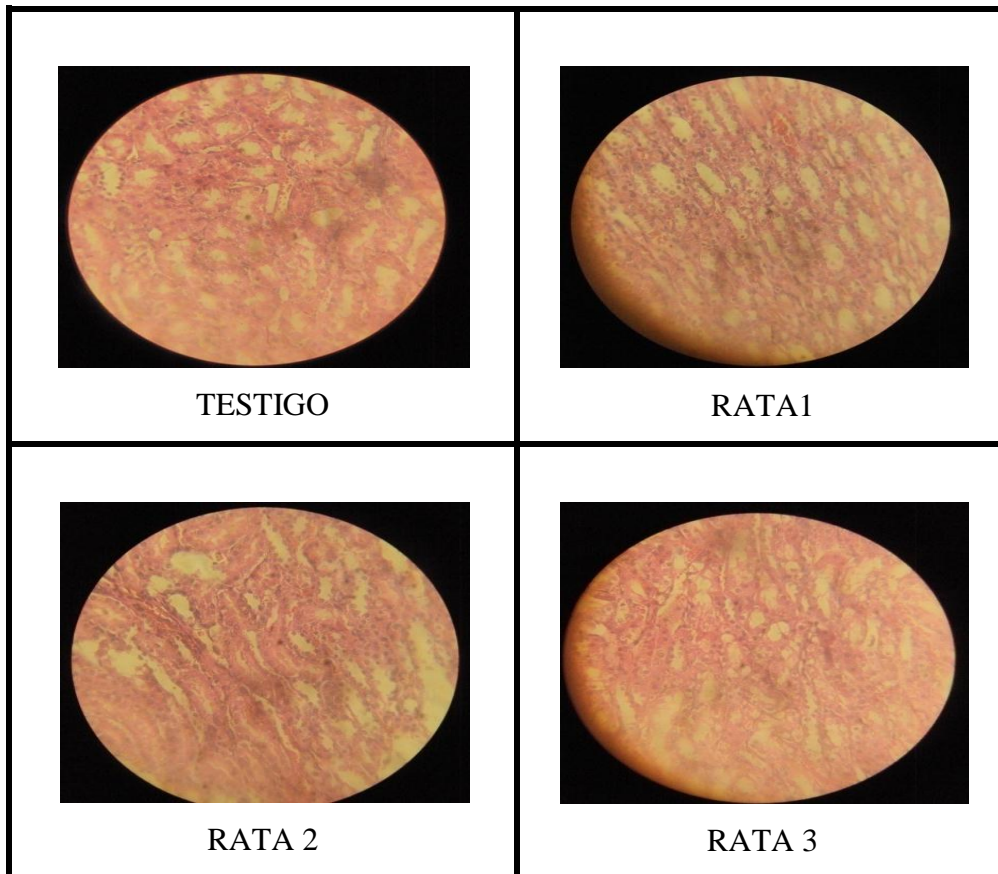
En el estudio microscópico del hígado y riñones presentan una estructura histológica normal.



FOTOGRAFÍA No. 9

CORTE HISTOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DEL HÍGADO DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y TESTIGO.

La estructura histológica del hígado es normal tiene una estructura conservada, globulillo hepático con espacios porta conservados, hepatocitos de tamaño y forma normal, vena centroglobulillar con vascularidad conservada.



FOTOGRAFÍA No.10 CORTE HISTOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DE LOS RIÑONES DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y TESTIGO.

La estructura histológica del riñón posee un patrón de la nefrona conservada, glomérulo de tamaño y aspecto normales. Luz de los túbulos libre y sin trombos.

En el estudio macroscópico no se presentaron alteraciones patológicas para los órganos analizados: estómago, hígado y riñón; que se comportaron en todos los casos igual al grupo testigo. El estudio histopatológico se comportó de igual forma al no encontrarse evidencias de daños en los tejidos de los órganos antes mencionados (Fotografía No. 8, 9, 10). Estómago si anomalías; Hígado: sin lesión patológica; Riñón: sin lesión patológica. Presentando cambios iniciales post mortem.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

Según los parámetros físicos y químicos se pudo establecer que la materia prima esta en condiciones óptimas para su utilización, los resultados obtenidos se encuentra dentro de los límites establecidos en la Farmacopea Española 2002, su porcentaje de humedad es menor al 10% por lo hay una buena conservación, los valores de las cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácido están dentro de los valores específicos de cada especie vegetal. Es indicativo que no existe contaminación por materiales térreos (tierra y sílice) o adulteración con otras especies vegetales.

Según el control microbiológico de la droga cruda de las tres plantas, se pudo determinar la calidad sanitaria a través del recuento de Aerobios mesófilos Totales, Coliformes Totales, Coliformes fecales y levaduras y hongos estos se encuentran dentro de los parámetros de referencia de la AOAC y OMS (2007), se concluye que la materia prima tuvo un buen manejo y cuidado de contaminación durante la cosecha, poscosecha y por tanto no presenta riesgo para la salud.

Los resultados del análisis de caracterización físico-químicos realizados a los extractos fluidos de jengibre, tomillo y romero, se establece que estos poseen un pH ácido por lo que no hay degradación de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, ácidos grasos; índice de refracción resultó ser mayor al del agua (1,333), la densidad relativa resultó ser mayor al etanol (0,789 g/mL); y los sólidos totales son valores altos. Estos valores reflejan que en los extractos fluidos existen sustancias en disolución responsables de la actividad biológica.

El tamizaje fitoquímico de los extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero arrojan la presencia de compuestos como flavonoides, compuestos fenólicos, Triterpenos y Esteroides, saponinas y mucílagos en su composición lo que justifican las propiedades antiinflamatorias que registran estas especies. En la cromatografía de capa fina se identificaron en el jengibre terpenos, compuestos picantes los gingeroles, shoagoles y citral; en el tomillo ésteres terpénicos, alcoholes terpénicos, timol y carvacrol, en el romero se encontró, alcoholes terpénicos y cineol.

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de las formulaciones de extractos fluidos de Jengibre, Tomillo y Romero a diferentes dosis, utilizando el modelo de edema plantar inducido por Carragenina en ratas. La actividad antiinflamatoria de mayor a menor grado quedó de la siguiente manera: Formulación 2 (157,3 mg/Kg) > Formulación 3 (85,8 mg/Kg) > Formulación 1 (100,1mg/Kg). Por lo tanto hay un mayor efecto antiinflamatorio en proporciones iguales de romero y tomillo debido a que estas especies contienen ácido rosmarínico potente antioxidante, dicho ácido demostró actuar sobre la formación de prostaglandinas (PGE₂), de manera similar a la de los antiinflamatorios no esteroideos Naproxeno sódico.

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la DL₅₀ se ubicó por encima de 2000 mg/Kg, la formulación 2 no provocó mortalidad y no se encontraron alteraciones morfológicas relacionadas con la toxicidad, clasificándose a la sustancia en estudio como no tóxica.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad antiinflamatoria de la formulación 2.
2. Realizar estudios de toxicidad con dosis mayores a 2000 mg/kg de las formulaciones elaboradas.
3. Realizar estudios de estabilidad para la estimación de vida útil de las formulaciones.
4. Continuar con el estudio de plantas medicinales en búsqueda de productos funcionales y efectivos.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Evaluar la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de Jengibre (*Zingiber officinale*), Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante métodos de investigación Científica, Hipotético-Deductivo y Analítico-Experimental, aplicando diferentes dosis con la finalidad de encontrar las más adecuadas para comprobar su efectividad, como una alternativa frente al uso de fármacos antiinflamatorios ya que existe un tendencia al uso de productos naturales. El efecto antiinflamatorio se midió en 15 ratas (*Rattus norvegicus*), a las que se les inyectó Carragenina 0,5 % en la región plantar provocando inflamación, se las sometió a 5 tratamientos, siendo T1, T2 y T3 para las formulaciones 1, 2, 3 respectivamente, T4 un grupo control que recibió solo el vehículo agua destilada, T5 un grupo que recibió el antiinflamatorio Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg.

Administrados por vía oral utilizando una cánula, en las siguientes dosificaciones: Formulación 1 (Jengibre: 28,6; Tomillo: 42,9; Romero: 28,6) mg/Kg; Formulación 2 (Jengibre: 14,3; Tomillo: 85,8; Romero: 57,2) mg/Kg y la Formulación 3 (Jengibre: 14,3; Tomillo: 42,9; Romero: 28,6) mg/Kg, se midieron los volúmenes de inflamación desde las 0 hasta las 12 horas encontrándose una disminución en la velocidad de formación del edema. Se calcularon los porcentajes inflamación cada 2 horas y se determinó que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y el grupo control ($p < 0.05$). El Efecto antiinflamatorio obtenido en forma creciente es: $T1 > T3 > T2$. Se concluye que la formulación 2 mostró una efectividad antiinflamatoria superior al Naproxeno sódico durante las doce horas del ensayo, a partir doceava hora el edema desciende progresivamente. Se recomienda elaborar un fitofármaco con la dosificación de la formulación 2 para facilitar su almacenamiento y administración.

SUMMARY

The research aims to evaluate the antiinflammatory activity of the mixture of extracts of Ginger (*Zingiber officinale*), Thyme (*Thymus vulgaris L.*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by Scientific research methods, Hypothetical-Deductive and Analytical-Experimental, using different doses in order to find the most appropriate to test their effectiveness, as an alternative to the use of anti-inflammatory drugs because there is a tendency to use natural products.

The antiinflammatory effect was measured in 15 rats (*Rattus norvegicus*), which were injected with 0,5% carrageenan into the plantar region causing inflammation, were subjected to 5 treatments, with T1, T2 and T3 for formulations 1, 2, 3 respectively, T4 a control group that received only the vehicle distilled water, T5 a group that received the anti-inflammatory Naproxen sodium 12,40 mg/Kg.

Administered orally using a cannula in the following dosages: Formulation 1 (Ginger 28,6; 42,9 Thyme; Rosemary 28,6) mg/Kg; Formulation 2 (14,3 Ginger; Thyme 85,8; Rosemary 57,2) mg/Kg and Formulation 3 (Ginger 14,3; 42,9 Thyme; Rosemary 28,6) mg/Kg, measured volumes of inflammation from 0 up to 12 hours found a decrease in the rate of edema formation.

Rates were calculated each 2 hours and found that there was a statistically significant difference between treatment groups and control group ($p < 0,05$). The anti-inflammatory effect is increasingly obtained: $T1 > T3 > T2$. We conclude that the formulation 2 showed effective anti-inflammatory Naproxen sodium than during the twelve hours of testing, from the twelfth hour the swelling goes down progressively. It is recommended to develop the phytomedicine of the formulation 2 to facilitate storage and administration.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO., J.** Tratado de fitofármacos y nutraceuticos., Buenos aires – Argentina., Corpus., 2004., p. 641- 646, 927-930,1037-1041
2. **ARA., A.** 100 Plantas Medicinales Escogidas: Una Guía de Plantas de todo el mundo seleccionadas por su valor terapéutico., Madrid - España., Edaf. S.A., 1997., p. 14, 28-29
3. **CÁCERES., A.** Plantas de Uso Medicinal., Guatemala., 2001., p. 5, 43,110
4. **CASCALES., M. et al.** Bioquímica y Fisiología del Sistema inmune. Instituto de España., Madrid – España., Realigraf S.A., 2007., p. 31-61
5. **CASTILLO., E., MARTÍNEZ, I.** Manual de Fitoterapia., Barcelona – España., Elsevier Masson., 2007., p. 57-63, 69, 79-87
6. **CENTRO DE FARMACOVIGILANCIA DE NAVARRA.** Interacciones fármacos hierbas medicinales., Boletín Informativo Farmacovigilancia N° 24., 2004., p.6-19
7. **CONTRAN., R., KUMAR., V., COLLINS., T.** Robbins Patología Estructural y Funcional., 6ª.ed., Madrid – España., Mc Graw Hill Interamericana., 2000., p. 53-55

8. **CYTED.** Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo Manual de Técnicas de Investigación., 1995., p. 12-26, 81-86, 216-225.
9. **FONNEGRA., R., JIMÉNEZ., S.** Plantas medicinales aprobadas en Colombia., 2^a.ed., Bogotá-Colombia., Ed. Universidad de Antioquía., 2007., p. 150-152
10. **FUNDACIÓN HOGARES CAMPESINOS.** El milagro de las plantas aplicaciones medicinales y orofaríngeas., Bogotá – Colombia., Taller San Pablo., 2005., p. 111-112
11. **GENNARO., A.** Remington Farmacia., 20^a.ed., Tomo 1., Buenos Aires – Argentina., Ed. Médica Panamericana S.A., 2003., p. 872, 873, 1198
12. **GÓMEZ., A.** Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro., Guatemala., Ed. Universidad de San Carlos de Guatemala., 2005., p. 65-79, 101-103, 116-125, 422-433
13. **JANEWAY., CH. et al.** Inmunología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad., Madrid - España., Masson., 2003., p. 1233-1256
14. **LOCK., O.** Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales., 2^a.ed., Lima – Perú., Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú., 1994., p. 22-28, 72-80, 114-117
15. **MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO.** Real Farmacopea Española., 2^a. ed., Madrid - España., Imprenta Nacional del Boletín Oficial del Estado., 2002., p. 454-455, 548, 549, 553, 1735, 2263-2265; 2443-2445
16. **MUÑOZ., F.** Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y Proceso., Madrid-España., Grupo Mundi-Prensa., 1996., p. 15-18, 281-288, 311-318

17. **MURIEL., C.** Dolor crónico diagnóstico, clínica y tratamiento., Madrid – España., Arán Ediciones S.L., 2007., p. 158-163, 171
18. **NARANJO., P., CRESPO., A.** Etnomedicina: Progresos Ítalo-Latinoamericanos., Volumen II., Quito- Ecuador., Abya-Yala., 1997., p 49-57
19. **SAMANIEGO., E.** Fundamentos de farmacología médica., 6^a.ed., Quito - Ecuador., Casa de la Cultura Ecuatoriana., 2005., p. 427-443
20. **SECRETARIA DE SALUD. COMISIÓN PERMANENTE DE LA FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.** Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos., D.F. México – México., 2001., p. 57-58
21. **SOLÍS., P. et al.** Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. Organización de los Estados Americanos., 2001., p. 43-68, 77-78, 84-91
22. **VANACLOCHA., B., CAÑIGUERAL., S.** Fitoterapia vademécum de prescripción., 4^a.ed., Barcelona – España., Masson S.A., 2003., p.310-311, 431-432, 476-477
23. **WAGNER., H., BLADT., S.** Plant drug analysis. A Thin layer chromatography atlas., 2^a. ed., Berlín - Alemania., Ed. Springer- Verlag., 1996., p. 176, 178, 209, 296, 300.
24. **ESTRADA., S.** Determinación de la actividad antimicrobiana in vitro de los Extractos Fluidos de Romero (*Rosmarinus officinalis*) y de Tomillo (*Thymus vulgaris*)., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica Farmacia., Riobamba – Ecuador., TESIS., 2010., p. 55-63

- 25. FALCONI., M.** Elaboración y control de calidad de comprimidos Fitofarmacéuticos a base de extractos de Manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*), Ajo (*Allium sativum*) y Jengibre (*Zingiber officinale*), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba Ecuador., TESIS., 2011., p. 77-78
- 26. GUADARRAMA., B.** Determinación de la Actividad Antiinflamatoria de dos muestras de *Sphaeralcea angustifolia* y la interacción del extracto activo con fármacos de uso clínico., Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la salud., D.F. México – México., TESIS., 2006., p. 11-33, 39-42
- 27. MONTESDEOCA., V.** Elaboración y Control de Calidad de Comprimidos Fitofarmacéuticos de Ajenjo (*Artemisia absinthium L.*), Romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y Manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*) para combatir la Menstruación dolorosa., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica Farmacia., Riobamba – Ecuador., TESIS., 2010., p.70-77
- 28. RIVERA., G.** Elaboración de un Fitopreparado Antifúngico Semisólido a partir del Extracto Fluido de la especie *Piper ecuadorensis* (Matico), Loja – Ecuador., Universidad Técnica Particular de Loja, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Modalidad Presencial., Loja – Ecuador., TESIS., 2010., p. 7, 11, 23
- 29. RUÍZ., D.** Validación farmacológica de la actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer), *Solanum mammosum* (chichitas) y *Rauvolfia tetraphylla L.* (chalchupa), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., Guatemala., TESIS., 2008., p. 5, 7-19

- 30. SIÑANI, G.** Determinación de la Actividad Antiinflamatoria e Interacción de Extractos de la Planta Kiswara (*Buddleja coriácea* Rémuy) con Dexametasona, mediante los ensayos de Edema plantar y Auricular en modelo murino., Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Carrera de Bioquímica., Bolivia., TESIS., 2009., p.18-20
- 31. VICET., L.** Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora*, L., Instituto Superior de Ciencias Médicas “Victoria de Girón”, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas., La Habana – Cuba., TESIS., 2009., p. 13-19
- 32. VILLELA., C.** Tamizaje Fitoquímico del Fruto del Árbol de la *Sapindus Saponaria* (Jaboncillo), identificando las principales familias de Metabolitos Secundarios, en muestras provenientes de Cunén, Departamento del Quiché, Guatemala., Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química., Guatemala., TESIS., 2005., p. 9-21, 31-37, 55-66, 86-87
- 33. ALEBREM**
<http://www.medicamentos.com.mx/DocHTM/22820.htm>
2012/01/10
- 34. BERMÚDEZ., D. et al.** Evaluación de la toxicidad aguda de extractos de Plantas medicinales por un método alternativo (Evaluation of acute toxicity of extracts of medicinal plants by an alternative testing)
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030706.pdf>
2007/03/01
- 35. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO 2008**
http://bcelular.fcien.edu.uy/index_archivos/practico1.pdf
2008/01/01

36. **BORDÉS., R. et al.** El Proceso Inflamatorio
[http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/
pinflamatorio4.htm](http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm)
2011/11/19
37. **CAPÍTULO 11. PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO
POR CARRAGENINA**
[http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/baez_c_
g/capitulo11.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/baez_c_g/capitulo11.pdf)
2011/11/10
38. **CELADA., A.** 25 Inflamación
[http://www.uco.es/grupos/inmunologia
molecular/temas_nuevos_pdf/tema25.pdf](http://www.uco.es/grupos/inmunologia_molecular/temas_nuevos_pdf/tema25.pdf)
2011/11/19
39. **EL CULTIVO DEL TOMILLO: TOMILLO, *Thymus vulgaris L***
(Fam. Labiadas)
<http://www.infoagro.com/aromaticas/tomillo.html>
2011/08/15
40. **EL ROMERO. PLANTA AROMÁTICA CON EFECTOS
ANTIOXIDANTES**
http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet? f=37&id=13124840
2011/08/15
41. **EL ROMERO *Rosmarinus officinalis L.***
[http://jardindelasalud.blogspot.com/2008/09/el-romero-rosmarinus-
officinalis-l.html](http://jardindelasalud.blogspot.com/2008/09/el-romero-rosmarinus-officinalis-l.html)
2008/09/15

42. **FERNÁNDEZ., F., TORRES., M.** Inflamación y Plantas Medicinales
<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH0199.dir/doc.pdf>
2011/12/10
43. **FERNÁNDEZ., F. et al.** Características químico-farmacéuticas y propiedades farmacológicas de extractos de *Musa Sp* ABB (plátano burro)
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961997000200009&lng=en&nrm=iso&ignore=.html
1997/07/30
44. **GARCÍA., L., et.al.** Plantas con propiedades antiinflamatorias
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002002000300012&script=sci_arttext&tlng=pt
2002/03/08
45. **JENGIBRE**
<http://www.herbotecnia.com.ar/exo-jengibre.html>
2011/08/11
46. **JENGIBRE**
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/natural/961.html>
2011/08/15
47. **JENGIBRE - PICANTE Y SANO**
<http://isnaya.webseiten.cc/index.php?id=104>
2011/08/15
48. **JENGIBRE (*Zingiber officinale Roscoe*)**
http://www.tu-farmacia.com/index.php?option=com_content&view=article&id=843
2011/08/15

- 49. LAGARTO., A. et al.** Toxicidad aguda oral y subcrónica en ratas de un extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum L.*
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=91922304>
2004/10/18
- 50. LAS BASES MOLECULARES DE LA INFLAMACIÓN**
<http://www.uv.es/jcastell/Inflamacion.pdf>
2011/11/19
- 51. LEÓN., M., HERRERA., R.** Selección de preparados farmacéuticos y vías de administración.
www.hcqh.sld.cu/.../Preparados%20y%20vias%20de%20administracion
2011/12/12
- 52. LÓPEZ., T., PADRÓ., L.** Determinación de los parámetros de calidad y composición químico-cualitativa de la tintura de Ítamo Real
<http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/1968/1521>
2011/12/12
- 53. LÓPEZ., T.** Tomillo: Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas
<http://www.macroestetica.com/articulos/tomillo-propiedades-farmacologicas-e-indicaciones-terapeuticas/>
2011/08/15
- 54. LLANIO., M. et al.** Pesquisaje de los Efectos Antiinflamatorios – Analgésicos en Dos Extractos de Esponjas.
<http://oceanologia.redciencia.cu/articulos/articulo16.pdf>
2003/01/01
- 55. MACÍAS., V., COY., E., CUCA., L.** Análisis fitoquímico preliminar y actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto etanólico de

corteza de *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae)

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962011000100005&script=sci_arttext&tlng=pt

2010/12/30

56. MAGARIÑOS., G. Técnica histológica

<http://www.dermato101.com.ar/tecnica.pdf>

2011/12/20

57. MANZANO., P. et al. Efecto antiinflamatorio y antimicótico del extracto

alcohólico y composición química del aceite de hojas de *Conyza*

bonariensis (L.) Cronquist (canilla de venado)

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962011000100002&script=sci_arttext

2010/10/06

58. *Rattus norvegicus*

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Rattusnorvegicus00.pdf>

2011/11/23

59. PLACAS PETRIFILM™ 3M™

http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy4xTtEVuQEcuZgVs6EVs6E666666--&fn=HSCC%20Interp%20Guide_sp.pdf

2011/12/11

60. PÉREZ., L. Requisitos de calidad de Productos Naturales Medicinales

<http://www.colegiodequimicosyfarmaceuticoselsalvador.com/congreso/SalonB/Requisitos-calidad-de-porodCONGRESO-EL-SALVADOR-2009.pdf>

2009/11/01

61. **RODRÍGUEZ., M. et al.** Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio del jugo de *Morinda citrifolia* L
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962005000300002&script=sci_arttext
2005/11/21
62. **ROMERO**
http://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus_officinalis
2011/08/15
63. **ROMERO**
<http://www.herbotecnia.com.ar/exo-romero.html>
2011/08/15
64. **ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)**
<http://www.mailxmail.com/curso-fitoterapia/romero-rosmarinus-officinalis>
2011/08/15
65. **ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L.) TOMILLO (*Thymus vulgare* L.)**
<http://www.mailxmail.com/curso-fitoterapia/romero-rosmarinus-officinalis-l-tomillo-thymus-vulgare-l>
2011/08/15
66. **ROSALES., V., et.al.** Evaluación farmacológica de *Pluchea carolinensis* Jacq. (salvia de playa) en animales de experimentación 2
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961999000200004
2011/12/20
67. **SISA., J.** JENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe)
<http://www.ecoaldea.com/plmd/jengibre.html>

2011/08/11

68. TALLER NACIONAL SOBRE INFLAMACIÓN SOCIEDAD CUBANA DE FARMACOLOGÍA

<http://biblioteca.idict.villaclara.cu/UserFiles/File/plantas%20medicinales%20y%20los%20hipoglicemiantes/11%20.pdf#page=18>

2001/11/30

69. TEMA 12. ANÁLISIS QUÍMICO DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES.

<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>

2011/10/27

70. *Thymus vulgaris*

http://es.wikipedia.org/wiki/Thymus_vulgaris

2011/08/15

71. TOMILLO

<http://www.herbotecnia.com.ar/exo-tomillo.html>

2011/08/15

72. TOMILLO - Common Thyme - *Thymus vulgaris* L.

<http://aplenavida.blogspot.com/2010/08/tomillo-common-thyme-thymus-vulgaris-l.html>

2011/08/15

73. TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.), Thymol

<http://holadoctor.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/tomillo-thymus-vulgaris-l-thymol>

2010/04/23

74. **Toxicología Aguda Oral de la decocción la *Peperomia pellucida* (L.) H.B.K. (Corazón de hombre)**
<http://www.sertox.com.ar/retel/n02/001.pdf>
2011/08/15
75. **VEGA., R ., LAGARTO, L.** Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto de *Piper auritum* H.B.K. y toxicidad aguda oral 1
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961999000100003&script=sci_arttext&tlng=en
1998/12/28
76. **VIDAURRE., M. et al.** Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*.
<http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v04n2/pdf/a04v4n2.pdf>
2011/12/10
77. **WHO. World Health Organization. General Guidelines for methodologies and Research and Evaluation of Tradicional Medicine. WHO/EDM/TRM/2000.1. Geneva, Suiza, 2000**
http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf
2000/01/01
78. ***Zingiber officinalis***
<http://www.adaptogeno.com/productos/jengibre.asp>
2011/08/08
79. ***Zingiber officinale***
http://es.wikipedia.org/wiki/Zingiber_officinale
2011/08/11

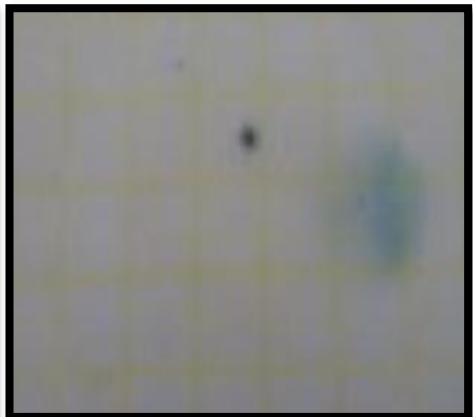
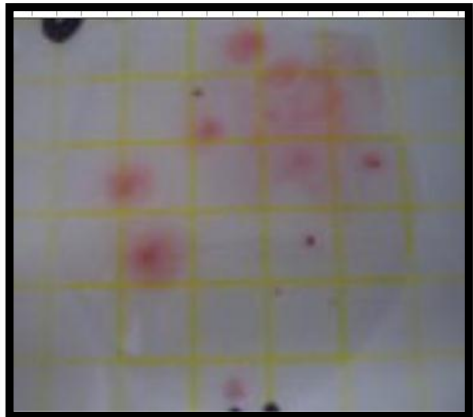
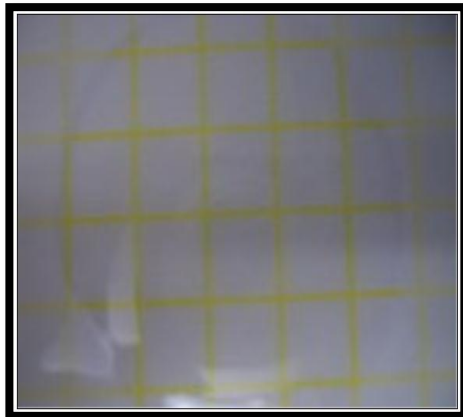
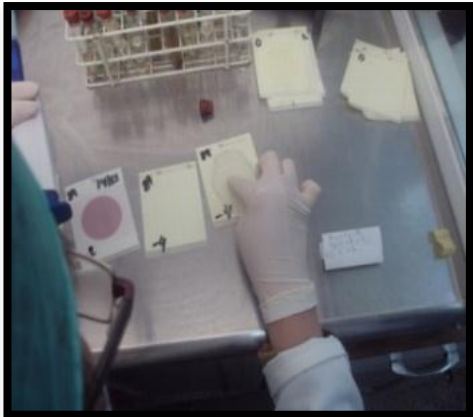
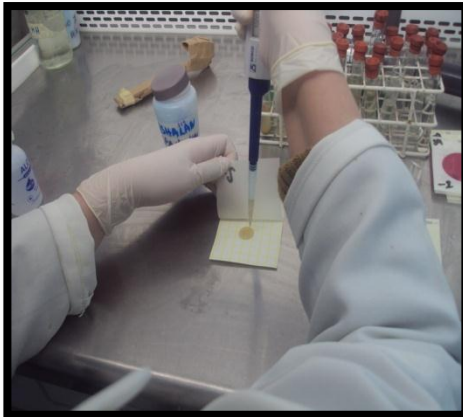
CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No. 1 PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA



ANEXO No. 2 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA CRUDA POR MÉTODO PETRIFILM.




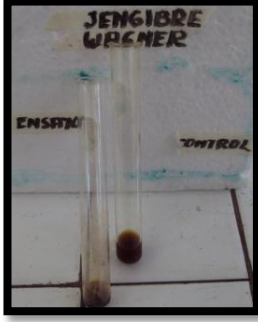
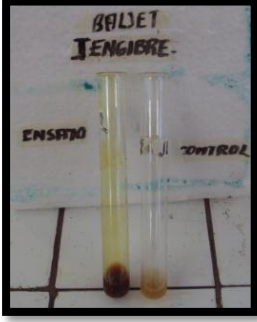
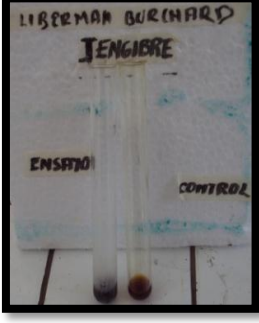
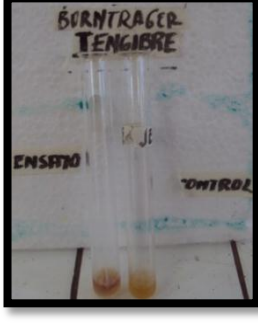

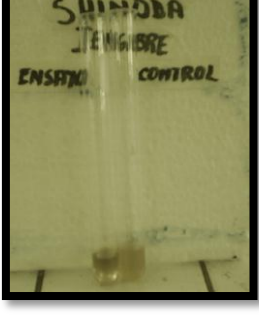

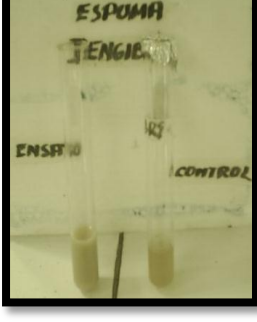


ANEXO No. 3 MÉTODO DE PERCOLACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS Y CONCENTRACIÓN A PRESIÓN REDUCIDA



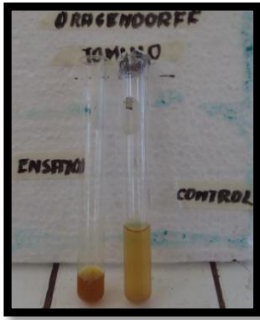
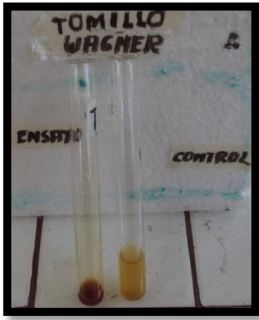




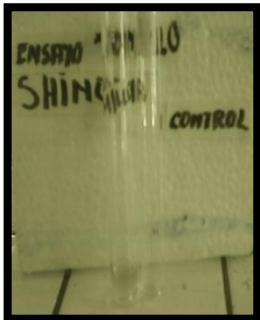
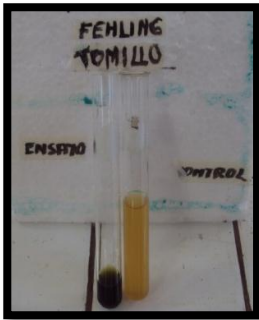

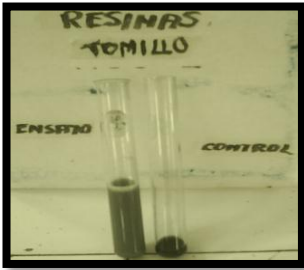

ANEXO No. 4 PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE, TOMILLO Y ROMERO.




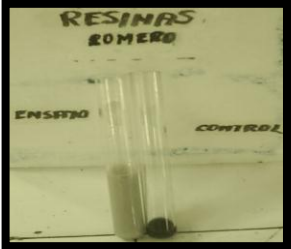

**ANEXO No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE JENGIBRE
(*Zingiber officinale*)**

 <p>JENGIBRE DRAGENDORFF</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>JENGIBRE WAGNER</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>BALJET JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>
 <p>LIBERMAN BURCHARD JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>BORNTRAGER JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>
 <p>SHINODA JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>FEHLING JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>ESPUMA JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>
 <p>RESINAS JENGIBRE</p> <p>ENSAYO CONTROL</p>	 <p>JENGIBRE TOMILLO SUDAN III RUMERO</p>	

ANEXO No. 6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DEL TOMILLO
(*Thymus vulgaris* L.)

 <p>ENSAYO DE DRAGENDORFF</p>	 <p>ENSAYO DE WAGNER</p>	 <p>ENSAYO DE BALJET</p>
 <p>ENSAYO DE LIBERMANN BURCHARD</p>	 <p>ENSAYO DE BORNTRAGER</p>	 <p>ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO</p>
 <p>ENSAYO DE SHINODA</p>	 <p>ENSAYO DE FEHLING</p>	 <p>ENSAYO DE ESPUMA</p>
 <p>ENSAYO DE RESINAS</p>	 <p>ENSAYO DE SUDAN III</p>	

**ANEXO No. 7 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DEL ROMERO
(*Rosmarinus officinalis*).**

 <p>ENSAYO DE DRAGENDORFF</p>	 <p>ENSAYO DE WAGNER</p>	 <p>ENSAYO DE BALJET</p>
 <p>ENSAYO DE LIBERMANN BURCHAR</p>	 <p>ENSAYO DE BORNTRAGER</p>	 <p>ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO</p>
 <p>ENSAYO DE SHINODA</p>	 <p>ENSAYO DE FEHLING</p>	 <p>ENSAYO DE ESPUMA</p>
 <p>ENSAYO DE RESINAS</p>	 <p>ENSAYO DE SUDAN III</p>	

ANEXO No. 8 ENSAYO FARMACOLÓGICO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)



ANEXO No. 9 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LARGO Y DIÁMETRO DE LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LAS RATAS A LOS DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA INYECCIÓN DE CARRAGENINA 0,5%.

CARRAGENINA 0,5% (0,1mL)			
TIEMPO (h) R1.	DIÁMETRO (cm)	LARGO (cm)	VOLUMEN (cm)³
0	2,9	3,2	21,14
1	3,2	3,2	25,74
2	3,5	3,3	31,75
4	3,8	3,3	37,43
6	4,2	3,6	49,88
8	4,3	3,6	52,28
10	4,2	3,5	48,49
12	4,0	3,5	43,98
REPETICIÓN 2			
0	2,8	3,2	19,70
1	3,1	3,2	24,15
2	3,5	3,4	32,71
4	4,1	3,4	44,89
6	4,3	3,7	53,73
8	4,4	3,6	54,74
10	4,4	3,6	54,74
12	4,0	3,5	43,98
REPETICIÓN 3			
0	2,8	3,0	18,47
1	3,1	3,0	22,64
2	3,4	3,3	29,96
4	3,8	3,3	37,43
6	4,2	3,6	49,88
8	4,3	3,6	52,28
10	4,3	3,6	52,28
12	4,0	3,5	43,98

ANEXO No. 10 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LARGO Y DIÁMETRO DE LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LAS RATAS A LOS DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE NAPROXENO SÓDICO 12,40 mg/Kg.

Naproxeno sódico 12,40 mg/Kg de peso corporal			
TIEMPO (h) R 1.	DIÁMETRO (cm)	LARGO	VOLUMEN
		(cm)	(cm)³
0	2,90	3,20	21,14
1	2,90	3,20	21,14
2	2,90	3,20	21,14
4	3,10	3,20	24,15
6	3,10	3,20	24,15
8	3,20	3,20	25,74
10	3,20	3,20	25,74
12	3,30	3,20	27,37
REPETICIÓN 2			
0	2,70	3,20	18,32
1	2,70	3,20	18,32
2	2,70	3,20	18,32
4	2,80	3,40	20,94
6	3,10	3,30	24,91
8	3,10	3,30	24,91
10	3,30	3,30	28,22
12	3,30	3,20	27,37
REPETICIÓN 3			
0	2,90	3,10	20,48
1	2,90	3,10	20,48
2	2,90	3,20	21,14
4	3,10	3,20	24,15
6	3,40	3,20	29,05
8	3,50	3,20	30,79
10	3,70	3,20	34,41
12	3,50	3,20	30,79

ANEXO No. 11 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LARGO Y DIÁMETRO DE LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LAS RATAS A LOS DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA FORMULACIÓN 1

FORMULACIÓN 1			
TIEMPO (h) R 1.	DIÁMETRO (cm)	LARGO	VOLUMEN
		(cm)	(cm)³
0	2,80	3,10	19,09
1	3,00	3,10	21,91
2	3,10	3,10	23,40
4	3,50	3,10	29,83
6	3,80	3,20	36,29
8	3,90	3,20	38,23
10	4,00	3,20	40,21
12	3,90	3,20	38,23
REPETICIÓN 2			
0	2,90	3,20	21,14
1	3,00	3,20	22,62
2	3,20	3,20	25,74
4	3,60	3,20	32,57
6	3,80	3,20	36,29
8	3,90	3,20	38,23
10	3,80	3,20	36,29
12	3,70	3,20	34,41
REPETICIÓN 3			
0	2,80	3,30	20,32
1	3,00	3,30	23,33
2	3,20	3,30	26,54
4	3,50	3,40	32,71
6	3,90	3,40	40,62
8	4,00	3,40	42,73
10	3,90	3,40	40,62
12	3,90	3,40	40,62

ANEXO No. 12 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LARGO Y DIÁMETRO DE LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LAS RATAS A LOS DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA FORMULACIÓN 2.

FORMULACIÓN 2			
TIEMPO (h) R 1.	DIÁMETRO (cm)	LARGO	VOLUMEN
		(cm)	(cm)³
0	2,70	3,30	18,89
1	2,80	3,30	20,32
2	2,70	3,30	18,89
4	2,80	3,40	20,94
6	2,90	3,50	23,12
8	3,10	3,40	25,66
10	3,00	3,40	24,03
12	2,90	3,40	22,46
REPETICIÓN 2			
0	2,80	3,20	19,70
1	3,00	3,20	22,62
2	2,90	3,20	21,14
4	3,00	3,20	22,62
6	3,10	3,20	24,15
8	3,30	3,20	27,37
10	3,20	3,20	25,74
12	3,10	3,20	24,15
REPETICIÓN 3			
0	2,80	3,30	20,32
1	2,90	3,30	21,80
2	2,90	3,30	21,80
4	3,00	3,40	24,03
6	3,10	3,50	26,42
8	3,30	3,40	29,08
10	3,20	3,40	27,34
12	3,10	3,40	25,66

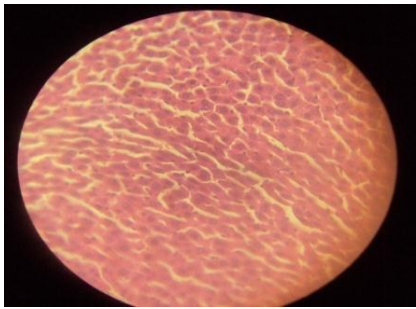
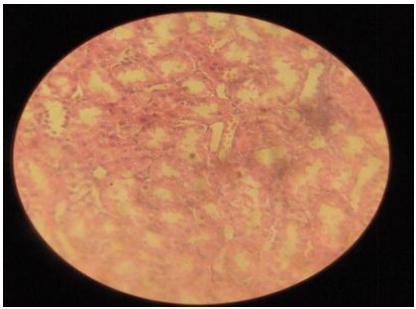
ANEXO No. 13 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LARGO Y DIÁMETRO DE LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LAS RATAS A LOS DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA FORMULACIÓN 3.

FORMULACIÓN 3			
TIEMPO (h) R 1.	DIAMETRO (cm)	LARGO	VOLUMEN
		(cm)	(cm)³
0	2,70	3,20	18,32
1	2,70	3,20	18,32
2	2,90	3,30	21,80
4	3,20	3,30	26,54
6	3,30	3,30	28,22
8	3,40	3,30	29,96
10	3,50	3,30	31,75
12	3,40	3,30	29,96
REPETICIÓN 2			
0	2,90	3,20	21,14
1	2,90	3,20	21,14
2	2,90	3,20	21,14
4	3,10	3,20	24,15
6	3,30	3,20	27,37
8	3,40	3,20	29,05
10	3,50	3,20	30,79
12	3,40	3,20	29,05
REPETICIÓN 3			
0	2,70	3,30	18,89
1	2,70	3,30	18,89
2	2,90	3,40	22,46
4	3,20	3,40	27,34
6	3,40	3,40	30,87
8	3,50	3,40	32,71
10	3,60	3,40	34,61
12	3,50	3,40	32,71

**ANEXO No. 14 PREPARACIÓN DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA EN LAS RATAS
(*Rattus norvegicus*)**



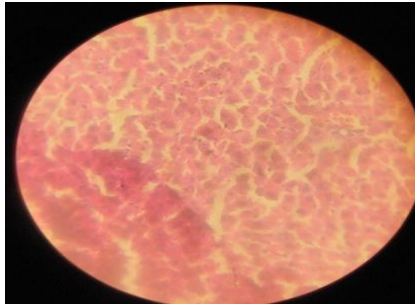
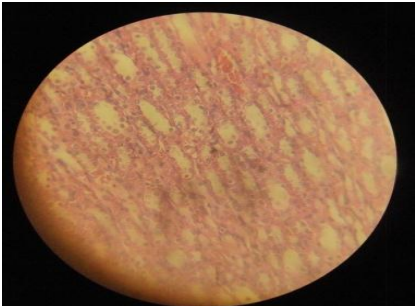
ANEXO No. 15 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO Y RIÑÓN DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO TESTIGO

	HÍGADO	RIÑÓN	
GRUPO TESTIGO			
ASPECTO	Normal	Normal	
COLOR	Gris	Gris	
MEDIDAS		DERECHO	IZQUIERDO
• LARGO	5,0 cm	1,5 cm	1,0 cm
• ANCHO	2,5 cm	1,0 cm	1,0 cm
• GROSOR	2,0 cm	0,8 cm	0,8 cm

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	Arquitectura conservada. Globulillo hepático con espacios porta conservados, hepatocitos de tamaño y forma normal, vena centroglobulillar con vascularidad conservada.	Patrón de la nefrona conservada; glomérulo de tamaño y aspecto normales; luz de los túbulos libre y sin trombos.
--------------------------------	--	--

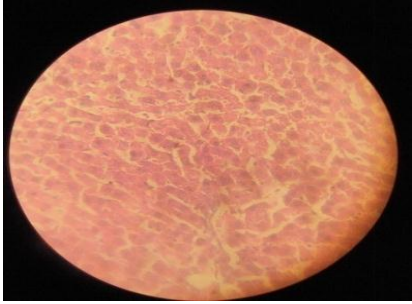
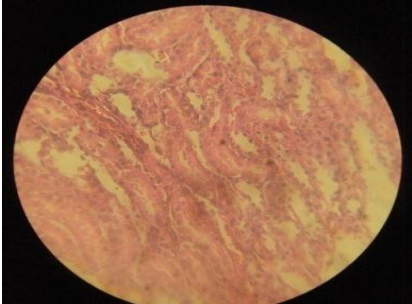
FUENTE: Dr. OSWALDO DUQUE. MÉDICO PATÓLOGO

ANEXO No. 16 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO Y RIÑÓN DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO DE EXPERIMENTACIÓN RATA 1.

	HÍGADO	RIÑÓN	
Toxicidad con 2000 mg/ Kg de peso.			
ASPECTO	Normal	Normal	
COLOR	Gris	Gris	
MEDIDAS		DERECHO	IZQUIERDO
• LARGO	5,0 cm	1,5 cm	1,5 cm
• ANCHO	3,0 cm	1,0 cm	1,0 cm
• GROSOR	2,0 cm	1,0 cm	1,0 cm
ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	Arquitectura conservada. Globulillo hepático con espacios porta conservados, hepatocitos de tamaño y forma normal, vena centroglobulillar con vascularidad conservada.	Patrón de la nefrona conservada; glomérulo de tamaño y aspecto normales; luz de los túbulos libre y sin trombos.	

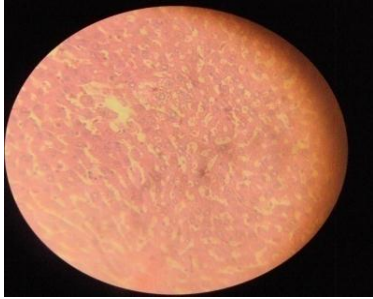
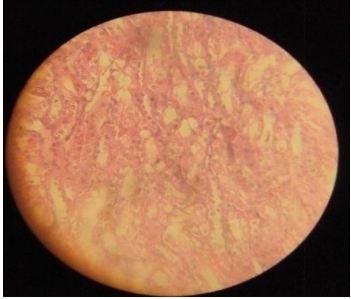
FUENTE: Dr. OSWALDO DUQUE. MÉDICO PATÓLOGO

ANEXO No. 17 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO Y RIÑÓN DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO DE EXPERIMENTACIÓN RATA 2.

	HÍGADO	RIÑÓN	
Toxicidad con 2000 mg/ Kg de peso.			
ASPECTO	Normal	Normal	
COLOR	Gris	Gris	
MEDIDAS		DERECHO	IZQUIERDO
• LARGO	5,0 cm	1,5 cm	1,8 cm
• ANCHO	3,0 cm	1,0 cm	1,0 cm
• GROSOR	2,0 cm	1,0 cm	1,0 cm
ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	Arquitectura conservada. Globulillo hepático con espacios porta conservados, hepatocitos de tamaño y forma normal, vena centroglobulillar con vascularidad conservada.	Patrón de la nefrona conservada; glomérulo de tamaño y aspecto normales; luz de los túbulos libre y sin trombos.	

FUENTE: Dr. OSWALDO DUQUE. MÉDICO PATÓLOGO

ANEXO No. 18 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO Y RIÑÓN DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO DE EXPERIMENTACIÓN RATA 3.

	HIGADO	RIÑÓN	
Toxicidad con 2000 mg/ Kg de peso.			
ASPECTO	Normal	Normal	
COLOR	Gris	Gris	
MEDIDAS		DERECHO	IZQUIERDO
• LARGO	5,0 cm	1,2 cm	1,2 cm
• ANCHO	3,0 cm	1,0 cm	1,0 cm
• GROSOR	1,5 cm	0,8 cm	0,8 cm
ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	Arquitectura conservada. Globulillo hepático con espacios porta conservados, hepatocitos de tamaño y forma normal, vena centroglobulillar con vascularidad conservada.	Patrón de la nefrona conservada; glomérulo de tamaño y aspecto normales; luz de los túbulos libre y sin trombos.	

FUENTE: Dr. OSWALDO DUQUE. MÉDICO PATÓLOGO

Nota: Al corte las muestras son compactas y homogéneas.

ANEXO No. 19 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA

TIEMPO (h)	EFECTO (%)	TRATAMIENTOS			
		NAPROXENO SÓDICO	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3
1	INFLAMACIÓN	0,00	12,08	9,88	0,00
	INHIBICIÓN	17,37	6,44	10,75	19,55
2	INFLAMACIÓN	1,10	24,99	7,36	12,06
	INHIBICIÓN	35,83	19,86	33,01	30,75
4	INFLAMACIÓN	15,53	57,09	14,72	33,73
	INHIBICIÓN	42,17	20,57	43,55	34,83
6	INFLAMACIÓN	30,33	86,97	25,07	48,17
	INHIBICIÓN	49,11	26,25	51,99	43,67
8	INFLAMACIÓN	35,87	96,85	39,37	57,19
	INHIBICIÓN	48,88	25,18	48,45	42,41
10	INFLAMACIÓN	47,44	93,44	30,88	66,48
	INHIBICIÓN	43,18	24,69	50,41	37,53
12	INFLAMACIÓN	42,70	87,05	22,67	57,19
	INHIBICIÓN	35,18	14,17	45,23	30,48

LOS VALORES SON EXPRESADOS COMO PORCIENTO DE INFLAMACIÓN E INHIBICIÓN DEL EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA CON RESPECTO A LA VARIACIÓN DEL VOLUMEN PLANTAR REGISTRADO. *P<0.05 COMPARADO CON LOS VALORES DEL GRUPO CONTROL.

