



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE
EXTRACTOS DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*) MEDIANTE EL
TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

MARISOL ALEXANDRA MUÑOZ ALTAMIRANO

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres Juan y Emperatriz gracias por su esfuerzo diario, su amor y su apoyo incondicional, y ser la fuente de inspiración, para poder culminar con éxito esta etapa de mi vida. Y por haber fomentado en mí el deseo de superación.

A mis abuelitos que desde el cielo me han acompañado.

A mis hermanos Mayra y Joel por ser mi fuente de apoyo, y juntos compartir la alegría de la vida, para ustedes todo el amor y agradecimiento.

A mi pequeño Juan Diego que en cada sonrisa encontraba un apoyo para poder lograr este objetivo.

A Leonardo que siempre ha estado apoyándome para continuar con todos mis proyectos.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme dado la vida a mis padres por haber depositado toda su confianza, y por ser el pilar fundamental de mi vida. Los amo.

A mi hermana Mayra por su apoyo y compañía incondicional, ya que siempre estaba ahí para darme un impulso y poder lograr nuestro objetivo, y me alienta a seguir adelante en mi preparación profesional.

A Joel, Juan Diego, Leonardo por su valioso apoyo en la culminación de mi trabajo de titulación.

A la Dra. Susana Abdo, por su excelente colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente tesis.

Al B.Q.F. Fausto Contero, por su colaboración en el desarrollo de la investigación.

A la B.Q.F Tatiana Guevara, quien me ha brindado su amistad, compartió su conocimiento, y está dispuesta ayudarme en lo que me haga falta.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A mis amigos que me han brindado su amistad, y me han acompañado durante toda mi carrera. Mil gracias.

A mis maestros de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que durante mi vida estudiantil supieron entregarme sus sabios conocimientos, formación académica y profesional.

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 EXTRACTOS DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*) MEDIANTE EL TEST DE EDEMA INDUCIDO EN RATAS (*Rattus norvegicus*).”** de responsabilidad de la señorita egresada Marisol Alexandra Muñoz Altamirano, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Francisco Portero DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
Dra. Susana Abdo DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
B.Q.F. Fausto Contero MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tlgo. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS	_____	

Yo, **Marisol Alexandra Muñoz Altamirano**, 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

MARISOL ALEXANDRA MUÑOZ ALTAMIRANO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
Ac.	Ácido
ADP	Adenosin difosfato
AINES	Antiinflamatorios no Esteroides
Cm	Centímetro
Conc	Concentrado
COX	Ciclooxigenasa
DAG	Diacilglicerol
DL ₅₀	Dosis letal media
ERO	Especies Reactivas del Oxígeno
FAP	factor activador de plaquetas
FLA2	Fosfalipasa A2
FNκB	Factor de transcripción nuclear kappa B
G	Gramo
IA	Inflamación Aguda
IC	Inflamación Crónica
Kg	Kilogramo
LTA	Leucotrieno A
LTB4	Leucotrieno B4
Mg	Miligramo
NO	Óxido Nítrico
pH	Potencial de Hidrógeno
PMN	Polimorfonucleares
Ppm	Partes por millón
R	Repeticiones
Rf	Factor de retención
Rpm	Revoluciones por minuto
T	Tiempo
UV	Ultravioleta
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
μL	Micro litro
μg	Microgramo

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. Inflamación	- 1 -
1.1.1. Introducción	- 1 -
1.1.2. Definición	- 1 -
1.1.3. Factores de la Inflamación	- 2 -
1.1.4. Proceso Inflamatorio	- 4 -
1.1.5. Fases de la Inflamación	- 5 -
1.1.6. Tipos de Inflamación	- 6 -
1.1.6.1. Inflamación Aguda (IA)	- 6 -
1.1.6.1.1 Evolución de la Inflamación Aguda	- 8 -
1.1.6.2. Inflamación Crónica (IC)	- 9 -
1.1.7. Mecanismos de la Inflamación	- 10 -
1.1.7.1. Migración Leucocitaria	- 10 -
1.1.7.2. Células y moléculas que actúan en la Inflamación	- 11 -
1.1.8. Mediadores químicos de la Inflamación	- 11 -

1.1.8.1. Mediadores derivados de células.....	- 12 -
1.1.8.2. Mediadores derivados de las proteínas plasmáticas	- 14 -
1.1.9. Manifestaciones sistémicas de la Inflamación.....	- 17 -
1.1.9.1. Reparación de la Inflamación	- 18 -
1.2. Antiinflamatorios	- 18 -
1.2.1. Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINES).....	- 18 -
1.2.2. Mecanismo de acción	- 20 -
1.2.3. Medicamentos antiinflamatorios esteroideos.....	- 20 -
1.2.4. Otros antiinflamatorios	- 21 -
1.3. Naproxeno Sódico.....	- 21 -
1.3.1. Estructura del naproxeno	- 21 -
1.3.2. Mecanismo de acción	- 22 -
1.3.3. Efectos adversos.....	- 22 -
1.4. Plantas medicinales con actividad antiinflamatoria	- 22 -
1.5. Pruebas in vivo de la actividad antiinflamatoria.....	- 23 -
1.5.1. Prueba de edema plantar en rata inducido por carragenina	- 23 -
1.5.1.1. Carragenina	- 24 -
1.5.1.2. <i>Rattus norvegicus</i>	- 26 -
1.6. Toxicidad aguda.....	- 28 -
1.7. Santa María (<i>Piper peltatum</i>)	- 29 -
1.7.1. Familia Piperaceae	- 29 -
1.7.2. Sinonímia..	- 30 -
1.7.3. Descripción Botánica	- 30 -
1.7.4. Datos Agrotecnológicos	- 31 -
1.7.4.1. Hábitat	- 31 -

1.7.4.2. Altura y distribución geográfica.....	- 31 -
1.7.4.3. Usos medicinales.....	- 32 -
1.7.4.4. Composición Química	- 32 -
1.7.4.5. Farmacología.....	- 32 -
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	- 33 -
2.1. Lugar de investigación	- 33 -
2.2. Materiales, equipos y reactivos.....	- 33 -
2.2.1. Materia prima	- 33 -
2.2.2. Reactivo Biológico.....	- 34 -
2.2.2.1. Descripción	- 34 -
2.2.2.2. Condiciones ambientales	- 34 -
2.2.3. Equipos materiales y reactivos para el análisis del vegetal.....	- 34 -
2.3. Métodos y técnicas.....	- 36 -
2.3.1. Comprobación Taxonómica.....	- 36 -
2.3.2. Recolección del material vegetal	- 36 -
2.3.3. Limpieza y desinfección del material vegetal.....	- 36 -
2.3.4. Obtención de los extractos para evaluación antiinflamatoria	- 37 -
2.3.5. Control de calidad del material vegetal	- 38 -
2.3.6. Tamizaje Fitoquímico.....	- 38 -
2.3.7. Parámetros de calidad del extracto etanólico.....	- 40 -
2.4. Análisis cromatográfico.....	- 40 -
2.4.1. Análisis cromatográfico para Flavonoides	- 41 -
2.4.2. Análisis cromatográfico para Alcaloides.....	- 41 -
2.5. Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales expresado como porcentaje de rutina	- 41 -

2.6. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos Santa María (<i>Piper peltatum</i>).....	- 42 -
2.7. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de Santa María (<i>Piper peltatum</i>).....	- 47 -
2.7.1. Diseño Experimental	- 48 -
2.7.2. Exámen Anatomopatológico.....	- 49 -
2.7.3. Exámen Histopatológico.....	- 49 -
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	- 50 -
3.1. Control de calidad de la droga cruda.....	- 50 -
3.2. Parámetros de calidad cualitativo (Tamizaje Fitoquímico).....	- 51 -
3.3. Control de calidad de los extracto etanólico de Santa María (<i>Piper peltatum</i>).....	- 53 -
3.3.1. Determinación de requisitos organolépticos del extracto etanólico.....	- 53 -
3.3.2. Determinación de los parámetros físicos del extracto etanólico.....	- 54 -
3.4. Analisis cromatográfico.....	- 55 -
3.4.1. Analisis cromatográfico para Flavonoides	- 55 -
3.4.2. Analisis cromatografico para Alcaloides.....	- 56 -
3.5. Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales expresado como porcentaje de rutina	- 57 -
3.6 Evaluacion de la actividad antiinflamatoria del extracto etanolico de Santa María (<i>Piper peltatum</i>) en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) con edema plantar inducido con carragenina.	- 57 -
3.6.1. Análisis Estadístico	- 60 -
3.6.2. Hipótesis Estadística.....	- 63 -
3.7. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico Santa María (<i>Piper peltatum</i>).....	- 65 -
3.8. Exámen histopatológico en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 67 -
4. CONCLUSIONES	- 71 -

5. RECOMENDACIONES	- 73 -
6. RESUMEN	- 74 -
7. BIBLIOGRAFÍA	- 76 -
8. ANEXOS	- 90 -

ÍNDICE DE CUADROS

- CUADRO N° 1. Resultados del control de calidad de la droga cruda Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2013.- 50 -
- CUADRO N°2. Resultados de calidad cualitativo (Tamizaje Fitoquímico) Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2013.....- 51 -
- CUADRO N°3. Determinación organoléptica del extracto etanólico Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.- 53 -
- CUADRO N°4. Determinación de los parámetros físicos del extracto etanólico Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....- 54 -
- CUADRO N°5. Determinación de flavonoides según su Rf en cromatografía de capa fina del extracto Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.- 55 -
- CUADRO N°6. Determinación de alcaloides según su Rf en cromatografía de capa fina del extracto Santa Maria (*Piper peltatum*)". Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....- 56 -
- CUADRO N°7. Resultados del volumen de inflamación de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....- 58 -
- CUADRO N°8. Resultados del porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....- 60 -
- CUADRO N°9. Análisis de los signos en los primeros 7 días en ratas durante la investigación de la toxicidad aguda del extracto etanólico Santa Maria (*Piper peltatum*)". Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.- 65 -

CUADRO N°10 Exámen histopatológico de biopsias de ratas (*Rattus norvegicus*), que se les administró extracto etanólico Santa Maria (*Piper peltatum*)” para el análisis del efecto tóxico. Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....- 67 -

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1. Mediadores químicos de la inflamación.....	- 12 -
TABLA N° 2. Acciones de los principales mediadores de la inflamación.....	- 16 -
TABLA N° 3. Clasificación de los AINES	- 19 -
TABLA N° 4. Taxonomía (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 26 -
TABLA N° 5. Factores que influyen en ensayos de DL50.....	- 29 -
TABLA N° 6. Clasificación botánica	- 31 -
TABLA N° 7. Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios.....	- 39 -
TABLA N° 8. Denominación de grupos para la investigación	- 44 -
TABLA N° 9. Valoración de los signos de toxicidad aguda.....	- 48 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

- GRÁFICO N° 1 Resultado de volumen de inflamación de los diferentes grupos VS. tiempo. de extractos Santa María (*Piper peltatum*). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2013.- 59 -
- GRÁFICO N° 2 Porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos tratados en los diferentes tiempos (Horas). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2013.- 61 -
- GRÁFICO N° 3 Aplicación del Test Anova de la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en los diferentes tiempos (Horas). ESPOCH. Septiembre 2013.....- 63 -
- GRÁFICO N° 4 Aplicación del Test de Tukey de la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en los diferentes tiempos (Horas). ESPOCH. Septiembre 2013.....- 64 -

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1 Proceso inflamatorio.....	- 2 -
FIGURA N° 2 Factores de la inflamación.	- 3 -
FIGURA N° 3. Cambios que se produce tras la lesión tisular	- 7 -
FIGURA N° 4. Manifestaciones sistémicas del proceso inflamatorio	- 17 -
FIGURA N° 5. Mecanismo de acción de los AINES	- 20 -
FIGURA N° 6. Fórmula del naproxeno sódico	- 21 -
FIGURA N° 7. Estructura de la carragenina	- 25 -
FIGURA N° 8. Macroambiente y microambiente	- 27 -
FIGURA N° 9. <i>Piper peltatum.L</i>	- 30 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1. Hojas secas y trituradas (<i>Piper peltatum</i>).....	90 -
FOTOGRAFÍA N° 2. Maceración de hojas secas (<i>Piper peltatum</i>).....	91 -
FOTOGRAFÍA N° 3. Evaporación del solvente etéreo.....	91 -
FOTOGRAFÍA N° 4. Evaporación del solvente etanólico.....	91 -
FOTOGRAFÍA N° 5. Concentración del extracto (<i>Piper peltatum</i>).....	91 -
FOTOGRAFÍA N° 6. Determinación de humedad.....	92 -
FOTOGRAFÍA N° 7. Determinación de cenizas totales.....	92 -
FOTOGRAFÍA N° 8. Determinación de cenizas solubles en H ₂ O.....	92 -
FOTOGRAFÍA N° 9. Determinación de cenizas insolubles en HCl.....	92 -
FOTOGRAFÍA N° 10. Requisitos organolépticos.....	93 -
FOTOGRAFÍA N° 11. Sólidos totales.....	93 -
FOTOGRAFÍA N° 12. Índice de refracción.....	93 -
FOTOGRAFÍA N° 13. pH.....	93 -
FOTOGRAFÍA N° 14. Densidad relativa.....	94 -
FOTOGRAFÍA N° 15. Ensayo de Dragendorff.....	95 -
FOTOGRAFÍA N° 16. Ensayo de Wagner.....	95 -
FOTOGRAFÍA N° 17. Ensayo de Mayer.....	96 -
FOTOGRAFÍA N° 18. Ensayo de Shinoda.....	96 -
FOTOGRAFÍA N° 19. Ensayo de Lieberman Buchard.....	97 -
FOTOGRAFÍA N° 20. Ensayo de Cloruro Férrico.....	97 -
FOTOGRAFÍA N° 21. Ensayo de Fehling.....	98 -
FOTOGRAFÍA N° 22. Ensayo de Sudan III.....	98 -
FOTOGRAFÍA N° 23. Ensayo de Borntrager.....	99 -
FOTOGRAFÍA N° 24. Ensayo de Baljet.....	99 -
FOTOGRAFÍA N° 25. Ensayo de resinas.....	99 -
FOTOGRAFÍA N° 26. Lectura del estándar rutina.....	100 -
FOTOGRAFÍA N° 27. Cromatografía capa fina para flavonoides.....	101 -
FOTOGRAFÍA N° 28. Cromatografía capa fina para alcaloides.....	102 -
FOTOGRAFÍA N° 29. Grupos aleatorios experimentales ratas.....	103 -

FOTOGRAFÍA N° 30. Toma de pesos de los grupos experimentales	- 103 -
FOTOGRAFÍA N° 31. Materiales utilizados en la investigación	- 104 -
FOTOGRAFÍA N° 32. Extractos administrados en diferentes concentraciones....	- 104 -
FOTOGRAFÍA N° 33. Administración de extractos por vía oral	- 104 -
FOTOGRAFÍA N° 34. Patas normales de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 105 -
FOTOGRAFÍA N° 35. Inducción del edema plantar en ratas.....	- 105 -
FOTOGRAFÍA N° 36. Formación del edema plantar en ratas	- 105 -
FOTOGRAFÍA N° 37. Disminución del edema con el extracto etanólico 3mg/kg	- 106 -
FOTOGRAFÍA N° 38. Medición del volumen de la pata trasera derecha de la rata.....	- 106 -
FOTOGRAFÍA N° 39. Eutanasia con CO2	- 107 -
FOTOGRAFÍA N° 40. Disección de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 107 -
FOTOGRAFÍA N° 41. Extracción de los organos a investigar	- 108 -
FOTOGRAFÍA N° 42. Peso del estómago de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 108 -
FOTOGRAFÍA N° 43. Peso del hígado de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 108 -
FOTOGRAFÍA N° 44. Peso del riñón de las ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 45. Medición del estómago, hígado y riñón de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 46. Estómago, hígado y riñón de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en formol 10%	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 47. Fijación de placas del estómago, hígado y riñón de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 110 -
FOTOGRAFÍA N° 48. Examen histopatológico del estómago, hígado y riñón de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 111 -

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1 Materia prima	- 90 -
ANEXO N° 2 Obtención del extracto con distintos solventes	- 91 -
ANEXO N° 3 Control de calidad de la droga cruda hojas Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>).....	- 92 -
ANEXO N° 4 Control de calidad del extracto etanólico hojas de Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>)	- 93 -
ANEXO N° 5 Tamizaje fitoquímico hojas de Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>)	- 95 -
ANEXO N° 6 Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales	- 100 -
ANEXO N° 7 Análisis cromatográfico para flavonoides.....	- 101 -
ANEXO N° 8 Análisis cromatografico para alcaloides	- 102 -
ANEXO N° 9 Evaluación de la actividad antiinflamatoria de Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013	- 103 -
ANEXO N° 10 Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013....	- 107 -
ANEXO N° 11 Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñones de animales de experimentación ratas (<i>Rattus norvegicus</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013	- 108 -
ANEXO N° 12 Examen histopatológico del estómago, hígado y riones de animales de experimentación ratas (<i>Rattus norvegicus</i>). Laboratorio histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade. Noviembre 2013	- 110 -
ANEXO N° 13 Resultados del volumen promedio de las tres replicas de extractos Santa Maria (<i>Piper peltatum</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Noviembre 2013.....	- 112 -
ANEXO N° 14 Métodos de extracción discontinua	- 115 -
ANEXO N° 15. Solventes utilizados para la extracciön	- 115 -
ANEXO N° 16 Cuantificación de flavonoides totales usando como patrón la rutina en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Laboratorio de química instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre del 2013.	- 116 -

INTRODUCCIÓN

En la actualidad tenemos patologías que despiertan gran interés y generan procesos inflamatorios. La inflamación que es una reacción local del organismo frente a la agresión de un agente exterior, el mismo que puede ser causado por agentes infecciosos, irritantes, físicos y traumas. Esta respuesta puede ser excesiva y causar daño al tejido, por esta razón es necesario bloquear el proceso inflamatorio aplicando sustancias antiinflamatorias. (61)

La reacción inflamatoria constituye un fenómeno básico de la patología acompañada de dolor, por tanto el dolor es una de los primeros signos de enfermedad que ha provisto la naturaleza. El dolor es un problema de salud, las personas que lo padecen buscan asistencia médica para encontrar un alivio, para ello existen diferentes medidas como fármacos analgésicos, antipiréticos, y antiinflamatorios no esteroides, que son los más despachados tanto en farmacias como en tiendas de nuestro país. (14)

Los AINES son medicamentos muy utilizados debido a su múltiple acción. Se estima que más de 30 millones de individuos utilizan cada día en el todo el mundo, ya que es uno de los grupos farmacológicos más vendidos. Las molestias gastrointestinales son efectos indeseables primarios de los AINES. El consumo de antiinflamatorios ha incrementado en los últimos años lo que ha ocasionado, más del 30% de efectos adversos a nivel gastrointestinal, renal, sistema nervioso o alérgico e incluso la muerte. (62)

Las plantas medicinales han servido como tratamientos alternativos en problemas relacionados a la salud, en Ecuador se usan para aliviar las manifestaciones de varias enfermedades. El 80 % de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud. El 20% de la población que tiene acceso a la medicina convencional, el uso de medicamentos herbáceos y de “suplementos nutricionales” ha crecido exponencialmente en el último cuarto de siglo. (44)

La finalidad de este trabajo se basa en la necesidad actual de dar soluciones a los procesos de inflamación que son muy comunes en nuestro medio, de tal forma reducir los efectos adversos que producen los medicamentos.

Es por ello que se ha tomado como punto de investigación a la planta herbácea *Piper peltatum* L. que pertenece a la familia de las Piperáceas, ya que posee propiedades medicinales tales como: rubefaciente, tónico estomacal, emoliente, diurético, y antiinflamatorio. Esta planta es muy utilizada para edemas, inflamación linfática y enfermedades reumáticas, razón por la cual es un indicador de que la planta debe ser analizada por sus propiedades antiinflamatorias. (29) (65)

En esta investigación se realiza una evaluación in vivo de la actividad antiinflamatoria de *Piper peltatum* L. mediante el test de edema inducido con carragenina, en modelos biológicos, con el objetivo de buscar una mayor eficacia antiinflamatoria a diferentes concentraciones. Se realizó el control de calidad de la materia prima y de los extractos para obtener resultados de alto rendimiento, y así garantizar la eficiencia y eficacia de la actividad antiinflamatoria investigada, análisis cualitativo de flavonoides y de alcaloides mediante la cromatografía de capa fina, y se realizó la cuantificación de flavonoide, mediante análisis espectrofotométrico (UV). También se evalúa el grado de toxicidad, empleando el ensayo de toxicidad aguda a dosis fijas, el cual determina la dosis letal media.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 INFLAMACIÓN

1.1.1 INTRODUCCIÓN

La inflamación es uno de los mecanismos básicos de defensa de los organismos pluricelulares frente a la injuria. Es una reacción local del tejido conjuntivo. Como consecuencia de respuestas inmunes adaptativas humorales y celulares frente a antígenos de origen exógeno o endógeno. El mecanismo básico que está presente en la inflamación es la fagocitosis ya que logra la eliminación o aislamiento del tejido dañado. Este proceso regulada por los mediadores químicos de la inflamación. (1)

1.1.2 DEFINICIÓN

Es una respuesta localizada y protectora de los tejidos vascularizados frente a un daño, que puede ser causado por patógenos bacterianos o por algún agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. (1)

Incluye reacciones de naturaleza nerviosa, vascular, humoral y celular en el sitio lesionado, conformando un proceso dinámico, el objetivo es delimitar las áreas afectadas y degradar las células lesionadas así como el agente agresor. El evento final de la inflamación es la regeneración y la reparación. (1) (3)

La inflamación es un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso, cáncer. (1) (19)



FIGURA No. 1 PROCESO INFLAMATORIO.

FUENTE: CELADA, A. <http://www.uco.es/grupos/inmunologiamolecular/inmunologia/tema25/texto25.htm>

1.1.3 FACTORES DE LA INFLAMACIÓN

Este proceso produce el acúmulo de fluidos y leucocitos en el espacio extravascular. La inflamación puede ser causada por diversos factores entre ellos tenemos: factores endógenos (necrosis tisular o rotura ósea) o factores exógenos como lesiones por agentes mecánicos (corte), físicos (quemaduras), químicos (corrosivos), biológicos (microorganismos) e inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad). A los factores endógenos y exógenos se los denomina inductores ya que incluye, secuencialmente, inductores, sensores, mediadores y efectores. (48)

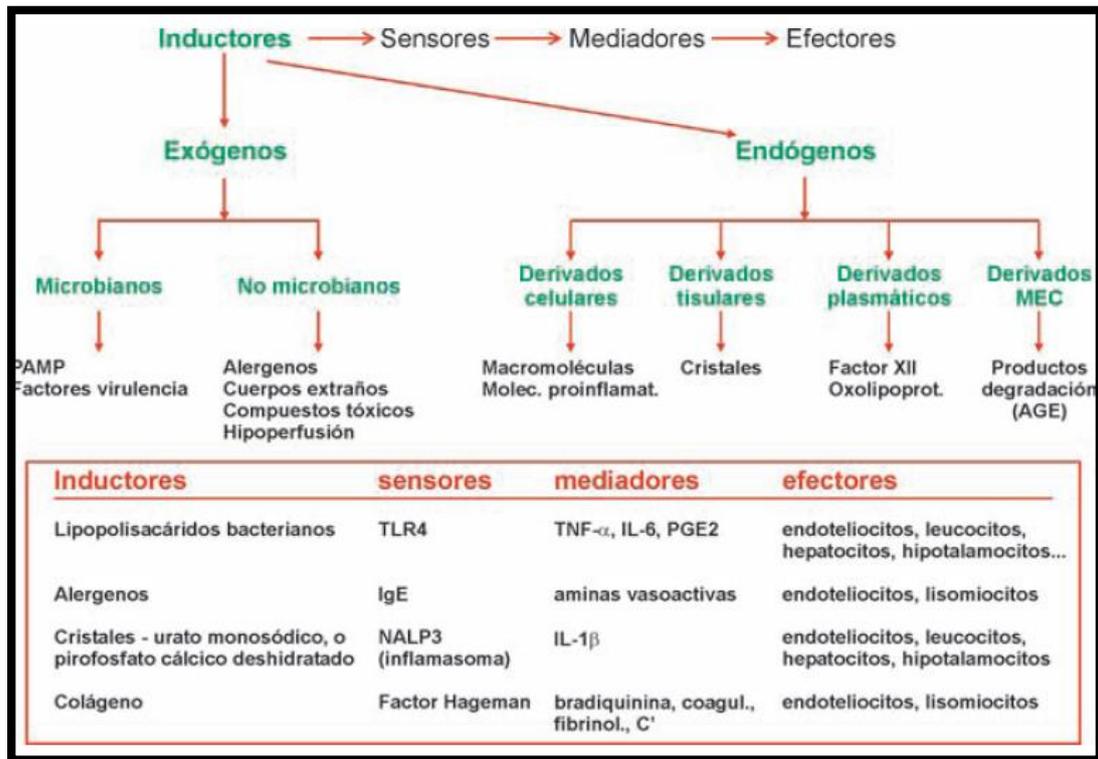


FIGURA No. 2 FACTORES DE LA INFLAMACIÓN.

FUENTE: <http://www.uco.es/grupos/inmunologiamolecular/inmunologia/tema25/etexto25.htm>

Aunque en algunos casos, como la hipersensibilidad, la inflamación puede tener consecuencias nocivas, por lo general es una respuesta protectora que trata de restaurar los tejidos lesionados. Tras un proceso inflamatorio puede ocurrir lo siguiente:

1. Resolución con retorno a una estructura y función normales
2. Supuración con formación de absceso
3. Hinchazón con regeneración de tejido especializado o fibroso formando una cicatriz.
4. Persistencia del agente causante, haciéndose el proceso crónico (48)

La respuesta inflamatoria está formada por plasma, células circulantes, vasos sanguíneos y constituyentes celulares y extracelulares del tejido conectivo. Entre las células circulantes se incluyen los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. (4)

Las células del tejido conectivo son los mastocitos, que rodean los vasos sanguíneos y los fibroblastos. La matriz extracelular consiste en proteínas fibrosas estructurales (colágeno, elastina), glicoproteínas adherentes (fibronectina, laminina, entactina, tenascina y otras) y proteoglicanos. La membrana basal es un componente especializado de la matriz extracelular que consiste en glicoproteínas adhesivas y proteoglicanos. (4) (5).

Los cuatro signos cardinales de la inflamación fueron descritos por Paracelso (30 AC al 38 DC) y son:

- Rubor: Enrojecimiento, debido principalmente a los fenómenos de aumento de presión por vasodilatación.
- Tumefacción: Aumento del líquido intersticial y formación de edema.
- Calor: Aumento de la temperatura de la zona inflamada. Se debe a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno.
- Dolor: El dolor aparece como consecuencia de la liberación de sustancias capaces de provocar la activación de los receptores, tales como las prostaglandinas.(4)

Galeno añadió un quinto signo: pérdida de función. La coloración y el calor se deben a un aumento del flujo sanguíneo en el área traumática y a la constricción de las vénulas. Los cambios de la microcirculación son inducidos por mediadores químicos. Estos mediadores, además, aumentan la permeabilidad capilar con lo que los líquidos y las células sanguíneas pasan al espacio extravascular provocando la hinchazón y un aumento de la presión local que es el que origina el dolor. (4) (47)

1.1.4 PROCESO INFLAMATORIO

El proceso inflamatorio representa una reacción tisular imprevista ante una agresión, que incluye: decisiones de puesta en marcha o de cese, basadas en la integración de secuencias moleculares incitadas por el daño tisular causado por la penetración de microbios o por la presencia de material extraño exógeno o endógeno. (18)

Como consecuencia de estos eventos vasculares se torna lenta la circulación que hace que los leucocitos se dirijan hacia la periferia, proceso conocido como marginación. Continuando con el proceso estos leucocitos marginados se sitúan sobre el endotelio vascular, lo que se conoce como rodamiento, se produce la adhesión leucocitaria y posteriormente, la trasmigración que es el proceso mediante el cual los leucocitos abandonan la circulación mediante diapédesis. (61)

Una vez fuera del sistema vascular se produce el fenómeno de quimiotaxis, migrando los leucocitos hacia la zona de lesión. Los diversos factores favorecen la activación leucocitaria como las sustancias quimiotácticas en concentraciones elevadas, la fagocitosis y complejos antígeno-anticuerpo. (7)

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.(4) (9)

1.1.5 FASES DE LA INFLAMACIÓN

De forma esquemática podemos dividir la inflamación en cinco etapas:

1. Liberación de mediadores. Están formados por moléculas que en su mayoría presentan una estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.
2. Efecto de los mediadores. Cuando estas moléculas son liberadas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.
4. Regulación del proceso inflamatorio. Fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso, en la mayor parte de las repuestas inmunes.
5. Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria. (9)

1.1.6 TIPOS DE INFLAMACIÓN

Según el tiempo de duración se divide en aguda y crónica. La inflamación aguda tiene un tiempo relativamente corto (minutos, horas), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. (2) (4)

La inflamación crónica tiene un tiempo de duración larga (semanas, meses o incluso años) y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo. (45)

1.1.6.1 Inflamación Aguda (IA)

Es una respuesta a un agente dañino o causal, la función de esta respuesta es suministrar leucocitos en el sitio lesionado, donde puede ayudar a depurar las bacterias invasoras, también ayuda a descomponer los tejidos necrosados resultantes del daño. La función de los leucocitos en si prolongan la inflamación e inducir daño tisular mediante la liberación de enzimas, mediadores químicos y radicales tóxicos de oxígeno. (9)

Los cambios que se producen tras la lesión tisular se deben a tres procesos:

1. Alteraciones en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo (vasodilatación). El incremento local de riego sanguíneo es causa del enrojecimiento y del calor características que se observan en la inflamación aguda.(9)
2. Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio. En la fase más temprana de la inflamación, la vasodilatación arteriolar y el incremento del riego sanguíneo aumentan la presión hidrostática intravascular y la filtración del líquido desde los capilares. El resultado neto es la salida de agua e iones hacia los tejidos extravasculares, esta acumulación de líquido se denomina edema. (9)
3. Emigración de los leucocitos del espacio vascular al extravascular alcanzando así el foco de las lesiones.

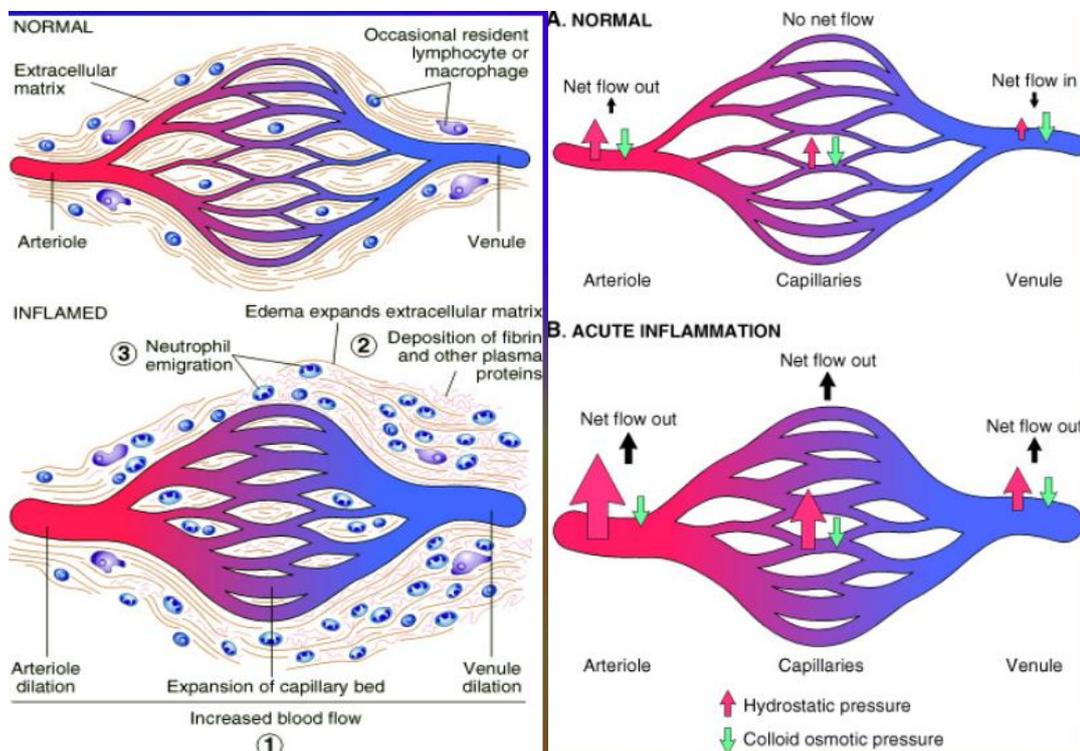


FIGURA N° 3. CAMBIOS QUE SE PRODUCE TRAS LA LESIÓN TISULAR

FUENTE: INFLAMACIÓN. <http://www.slideshare.net/migaos89/inflamacion-aguda-1243017>

Este proceso explica tres de los cinco signos locales de la inflamación aguda: calor, rubor, tumor. Obteniendo en la lesión tisular un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos. En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperemia 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. (18) (3)

La presión osmótica del plasma aumenta cuando disminuye la presión hidrostática, producto de este proceso sale de los vasos sanguíneos un líquido rico en proteínas, originado del exudado inflamatorio. (18)

1.1.6.1.1 Evolución de la Inflamación Aguda.

Son modificadas por la naturaleza e intensidad de la lesión, el sitio y tejidos afectados, y se basa en tres maneras:

- 1. Resolución completa:** Cuando la lesión es leve o implica una destrucción pequeña del tejido, el resultado es el restablecimiento de la normalidad histológica y funcional. Existe una eliminación de los distintos mediadores químicos, en última instancia, los esfuerzos combinados del drenaje linfático y de la ingestión macrofágica conducen a la depuración del líquido de edema, las células inflamatorias y los restos necróticos del “campo de batalla”. (18)
- 2. Cicatrización o fibrosis:** Ocurre cuando la destrucción hística es importante o cuando la inflamación afecta a tejidos sin capacidad de regeneración. Además, los exudados fibrinosos extensos, pueden no reabsorberse por completo y organizarse como consecuencia de la penetración de elementos del tejido conjuntivo, con la consiguiente fibrosis. La formación de abscesos puede tener lugar cuando los infiltrados por neutrófilos son especialmente abundantes o en determinadas infecciones bacterianas o micóticas (microorganismos piógenos o “formadores de pus”). El único resultado posible de la formación de un absceso es la cicatrización. (18) (3)

- 3. Progresión hacia la inflamación crónica:** inflamación aguda, aunque a veces se encuentran ya signos de inflamación crónica desde el momento de la lesión.

1.1.6.2 Inflamación Crónica (IC)

La IC tiene una duración prolongada (semanas o meses) en la que se pueden observar signos de inflamación activa, de destrucción tisular y de intentos de curación, puede dar lugar a un proceso neoplásico, es decir puede ser maligna. (39)

1.1.6.2.1 Características de la inflamación crónica

1. Infiltrado celular está compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
2. Destrucción tisular inducida principalmente por células inflamatorias. Las células inflamadas generan mediadores químicos (citoquinas) que inducen destrucción del propio tejido.
3. Como hay destrucción de tejido también se da un intento de reparación mediante sustitución por conjuntivo pasa a fibrosis y concluye con angiogénesis.(46) (48)

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas: progresión de inflamación aguda, episodios recurrentes de inflamación aguda e IC desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares. (48)

Microscópicamente la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos y sus derivados, linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos. (5)

Algunas formas de IC tienen una histología peculiar que consiste en el acúmulo de macrófagos modificados llamados epitelioides formando unos agregados nodulares llamados granulomas, a lo que se denomina inflamaciones crónicas granulomatosas, que pueden sistematizarse de acuerdo a la topografía, etiología o características histológicas de los granulomas. (49)

Tienen abundante citoplasma eosinófilo y segregan el enzima convertidor de angiotensina (Kininasa II), la fosfatasa ácida y mucopolisacáridos, y un núcleo vesicular. Además, los macrófagos pueden fusionarse por efecto del IFN-g y formar células gigantes que contienen hasta 100 núcleos. (49) (50)

1.1.7. MECANISMOS DE LA INFLAMACIÓN

1.1.7.1 Migración Leucocitaria

En la IA se acumula los leucocitos, neutrófilos polimorfonucleares y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Existen tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada, entre ellas, la extravasación o salida de las células desde la luz del vaso al espacio intersticial. (51)

Las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Al aumentar la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo, permite a los leucocitos acercarse al endotelio vascular. Este proceso se denomina marginación y se debe a los cambios hemodinámicos producidos en la inflamación (51).

Los leucocitos salen del torrente sanguíneo y entran en contacto con la célula endotelial, proyectan pseudópodos y migran por la superficie hasta que detectan una unión celular inter-endotelial. Durante su trayecto al tejido extravascular, el leucocito rompe estas uniones mediante la secreción de colagenasa. (6)

El leucocito que ha migrado depende mucho del tiempo que dura la inflamación y del tipo de estímulo. Casi siempre en IA 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. Posteriormente de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos a los lugares donde se ha producido la lesión mediante el proceso denominado quimiotaxis. (6) (51).

1.1.7.2 Células y moléculas que actúan en la inflamación

Las células que intervienen son los granulocitos neutrófilos (viven de 3 a 4 días) y los fagocitos mononucleares. Algunos de los productos de los gránulos son bactericidas, mientras que otros son capaces de degradar la matriz proteica extracelular. Varios de los neutrófilos mueren en los lugares de la inflamación, pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular con una enzima que libera. (14)

Los macrófagos tienen una producción autocrina de factores de crecimiento tales como el GM-CSF o el M-CSF que hacen que proliferen localmente en los tejidos. Para llevar a cabo sus funciones, los macrófagos necesitan ser activados por el IFN-g. (8) (14)

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilo macrófagos y linfocitos, los basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también produce mediadores químicos. (14).

1.1.8 MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

En el proceso de inflamación intervienen una serie de moléculas, que son producidas directa o indirectamente antes mencionadas. En condiciones normales estos mediadores son inactivos, porque circulan en forma de precursores en la sangre a los que se denomina mediadores plasmáticos, y los que se encuentran empaquetados en orgánulos o son sintetizados de nuevo durante la inflamación se denomina mediadores celulares.(52)

Estos mediadores químicos actúan sobre una o múltiples células dianas, su duración puede ser corta o larga según el tiempo de estadía puede ser muy perjudicial. (52)

TABLA N° 1. MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN	
PLASMATICOS	Sistema del complemento
	Sistema plasmático de la coagulación
	Sistema plasmático de la fibrinólisis
	Sistema de las cininas
CELULARES	Aminas vasoactivas (histamina, serotonina)
	Biolípidos (Eicosanoides) , PAF (Factor activador de las plaquetas)
	Radicales libres de oxígeno
	Óxido nítrico
	Enzimas lisosomales
	Citosinas proinflamatorias

Fuente: Castro. D. 2006. Mediadores químicos de la inflamación.

1.1.8.1 Mediadores Derivados de Células

Dentro de estos mediadores tenemos a los macrófagos tisulares, células endoteliales, y células cebadas, en el sitio de la inflamación. Numerosos estudios señalan la importancia del reclutamiento de leucocitos en el foco inflamatorio, sin embargo, una rápida respuesta requiere células centinelas estacionadas en los tejidos. (52)

Los mediadores químicos fundamentales hasta el momento son los siguientes:

- HISTAMINA

Es una amina producida por células cebadas y basófilos, estimulan su liberación la bradiquinina y las fracciones del complemento C3a y C5a. Se produce liberación de esta amina con una lesión celular inespecífica. (2)

Su acción es mediada por tres tipos de receptores (H1, H2 y H3) y como mediador químico del proceso inflamatorio estimula la vasodilatación, la permeabilidad vascular y la adhesión leucocitaria. (2) (52)

- **SEROTONINA**

Se encuentra en las plaquetas su liberación se estimula cuando estas se agregan tras su contacto con el colágeno, la trombina, el Adenosin difosfato (ADP) y los complejos antígeno-anticuerpo. Como mediador químico del proceso inflamatorio estimula la permeabilidad vascular. (2)

- **PROSTAGLANDINAS (PG)**

Se producen a partir del AA, el cual es liberado de las membranas por la FLA2. Se ha demostrado que la FLA2 de tipo secretoria (FLA2s), que es inducida, juega un papel importante en la inflamación. La expresión de esta enzima se incrementa con la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (FNkB). (18)

La Ciclooxygenasa es la enzima que actúa sobre el ácido araquidónico de la cual se conocen dos formas denominadas 1y2 (Cox-1 y Cox-2). La Cox-1 es constitutiva y la Cox-2 es inducida por citoquinas y factores de crecimiento. (18)

La principal función sobre la inflamación es aumentar la vasodilatación por la PGE₂ y la PGD₂

- **LEUCOTRIENOS (LT)**

Pertenecen a los icosanoides (vía de la 5-lipoxigenasa). El Leucotrieno B₄ (LTB₄) se obtiene por hidrólisis enzimática del Leucotrieno A (LTA) en neutrófilos, eosinófilos, monocitos, macrófagos, células cebadas y queratinocitos. Las funciones del LTB₄ son: ligando de receptores celulares, adhesión leucocitaria, quimiotaxis, activación leucocitaria y aumento de la permeabilidad vascular. (18)

Los leucotrienos C₄, D₄, y E₄ (LTC₄, LTD₄ y LTE₄) se obtienen en polimorfonucleares (PMN), eosinófilos, monocitos, macrófagos, células cebadas y queratinocitos. (18)

- **FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS (FAP)**

Derivado de los fosfolípidos específicamente acetil-gliceril-éterfosforilcolina, es un mediador bioactivo. Se acopla a proteína G. En esta etapa intervienen células como: plaquetas, basófilos y mastocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos y células endoteliales pueden elaborar FAP en forma secretada y en forma intracelular. (8)

Es más potente que la histamina y la bradiquinina, factor quimiotáctico, estimula la adhesión leucocitaria. Debido a estímulos muy diversos tales como microorganismos, activadores de macrófagos y complejos antígeno-anticuerpo. Su secreción puede estar estimulada por endotoxina, toxinas, lesiones físicas y diversos procesos inflamatorios. El efecto principal en la inflamación es: aumento de la quimiotaxis y aumento de la permeabilidad vascular. (8)

- **ÓXIDO NÍTRICO (NO)**

Es sintetizado por las células endoteliales, macrófagos y grupos neuronales específicos del cerebro, es un mediador pleiotrópico de la inflamación. El NO tiene un mecanismo de acción paracrino sobre las células dianas mediante la inducción de guanósín 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. 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. (8)

1.1.8.2 Mediadores derivados de las proteínas plasmáticas

Dentro de este sistema encontramos a proteínas circulantes tales como: sistemas del complemento, de las cininas y de la coagulación. (47)

- SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Está constituido por 20 proteínas que aparecen inactivas en el plasma. Las funciones biológicas del complemento se incluyen en dos categorías generales: lisis celular por el complejo de ataque a membrana (MAC) y efectos biológicos de los fragmentos proteolíticos del complemento. El paso más importante para la realización de las funciones biológicas del complemento es la activación de su tercer componente C3a. La fragmentación de C3a ocurre por dos vías: una vía clásica que se inicia con la fijación de C1a a un anticuerpo unido a un antígeno y una vía alternativa que se puede activar por las superficies de los microorganismos. (47)

Los factores liberados del complemento afectan a diversos fenómenos en la inflamación: fenómenos vasculares que se ven afectados por C3a y C5a y aumentan la permeabilidad vascular y producen vasodilatación principalmente mediante la liberación de histamina desde los mastocitos. (20)

- CININAS

El sistema calicreína – cinina o sencillamente sistema cinina es un sistema poco definido de proteínas sanguíneas de importancia en las inflamaciones, el control de la presión sanguínea, la coagulación y el dolor. Sus importantes mediadores, la bradiquinina y la calidina son vasodilatadores y actúan sobre muchos tipos de células (37)

TABLA N° 2. ACCIONES DE LOS PRINCIPALES MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

Mediador	Origen	Principales acciones
Derivados de Células		
Histamina	Mastocitos, basófilos, plaquetas	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, activación endotelial.
Serotonina	Plaquetas	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular
Prostaglandinas	Mastocitos, leucocitos	Vasodilatación, dolor, fiebre.
Leucotrienos	Mastocitos, leucocitos	Aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Factor activador de plaquetas	Leucocitos endoteliales	Vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, adhesión leucocitaria, quimiotaxis, de granulación, estallido oxidativo
Metabolitos del oxígeno	Leucocitos	Destrucción de microbios, daño tisular.
Óxido nítrico	Endotelio, macrófagos	Relajación del músculo liso vascular, destrucción de microbios.
Citosinas (TNF, IL-1)	Macrófagos, células endoteliales, mastocitos	Activación endotelial local (expresión de moléculas de adhesión), respuesta de fase aguda sistémica; en infecciones graves, shock séptico
Quimiocinas	Leucocitos, macrófagos activados	Quimiotaxis, activación leucocitaria
Derivados de las Proteínas Plasmáticas		
Complemento	Plasma (producido en el hígado)	Quimiotaxis y activación leucocitaria, opsonización, vasodilatación (estimulación de mastocitos)
Cininas	Plasma (producido en el hígado)	Aumento de la permeabilidad vascular, contracción del músculo liso, vasodilatación, dolor.
Proteasas activadas durante la coagulación	Plasma (producido en el hígado)	Actuación endotelial, reclutamiento de leucocitos

Fuente: KUMMAR, V. 2008. Patología Humana.

1.1.9 MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE LA INFLAMACIÓN

Se conocen de forma colectiva como respuesta de la fase aguda. Al llegar un agente que produzca una lesión hay un ajuste rápido en la composición de las proteínas plasmáticas y la concentración de algunas aumenta, mientras que las otras disminuyen. Una de las que aumenta es la proteína C reactiva, que funciona como opsonina de bacterias, la a-2-macroglobulina y otras antiproteinasas, el fibrinógeno del sistema de la coagulación y el amiloide sérico A, cuya función se desconoce. La albúmina y la transferrina disminuyen. (25)

La inflamación produce fiebre a través de pirógenos externos que estimulan la producción de pirógenos endógenos como la IL1 o el TNF. Estas citocinas actúan sobre el hipotálamo anterior, donde se encuentra el termostato central del organismo e inducen la producción de PGE2 que hace aumentar la temperatura corporal. (38)



FIGURA N° 4. MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO

FUENTE: MANIFESTACIÓN SISTÉMICA. <https://www.u-cursos.cl/odontologia/2011/1/OD1403/1/.../581804>

1.1.9.1 Reparación de la inflamación

En la inflamación se produce una destrucción de las células del parénquima y de las del estroma. El tejido lesionado se repara mediante tejido conectivo que va a producir la fibrosis y la escaificación. (64)

En este proceso intervienen los componentes siguientes:

1. Formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis)
2. Migración y proliferación de fibroblastos
3. Depósito de matriz extracelular
4. Maduración y organización del tejido fibroso (remodelación).

El proceso de reparación empieza a las 24 horas tras la lesión. Los fibroblastos y las células del endotelio vascular comienzan a proliferar formando el tejido de granulación en el cual se forman nuevos vasos. (38)

1.2 ANTIINFLAMATORIOS

Son fármacos diseñados para combatir la inflamación y las enfermedades que se derivan de problemas como: fracturas, reumatismo, estomatitis y lesiones urinarias y genitales. Como todos los medicamentos, pueden causar efectos secundarios y pueden ser causa de intoxicación, incluyendo sobredosis o la interacción con otros medicamentos. (1) (11)

1.2.1 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Son un grupo de fármacos inhiben la enzima Ciclooxygenasa, mediadora de la síntesis de prostaglandinas y su efecto es antiinflamatorio, analgésico y antipirético. Los productos que tienen estas propiedades los diferenciamos por sus efectos secundarios y por la duración del efecto producido. (12)

Los primeros AINES que se comercializaron comparten los mismos mecanismos de acción y los efectos adversos potenciales resultado de sus acciones no selectivas sobre la COX. (11)

De hecho, los antiinflamatorios no esteroideos tradicionales bloquean la producción de prostaglandinas responsables del dolor y la inflamación de la Ciclooxigenasa, inhibiendo la enzima que controla la producción de prostaglandinas. Por lo que también bloquean los aspectos positivos de las prostaglandinas, por ejemplo en el control de la producción de moco gástrico, que protege el estómago. (11) (13).

Con el descubrimiento de la presencia de dos isocoras, esta enzima cambió el curso de las investigaciones farmacológicas sobre los AINES y puso énfasis en hallar drogas con acción predominante o selectiva sobre COX - 2, en un esfuerzo por evitar la inhibición. (45)

TABLA N° 3. CLASIFICACIÓN DE LOS AINES

Clasificación de los AINES	
No selectivos (COX – 1 Y 2) Tradicionales, convencionales	Selectivos (COX -2) (Cosibles)
Aspirina	Rofecoxib
Acetaminofén	Valdecoxib
Indometacina	Parecoxib
Ibuprofeno	Celecoxib
Naproxeno	Etoricoxib
Sulindac	Lumiracoxib
Diclofenaco	
Piroxicam	
β- Piroxicam	
Meloxicam	

FUENTE: AINES. <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed18.pdf>

1.2.2 MECANISMO DE ACCIÓN

AINES inhiben la actividad de la enzima Ciclooxygenasa (COX), produciendo una disminución de la formación de prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. Los efectos terapéuticos producen disminución en la síntesis de prostaglandinas y su importancia en la producción del dolor, inflamación y fiebre. (55)

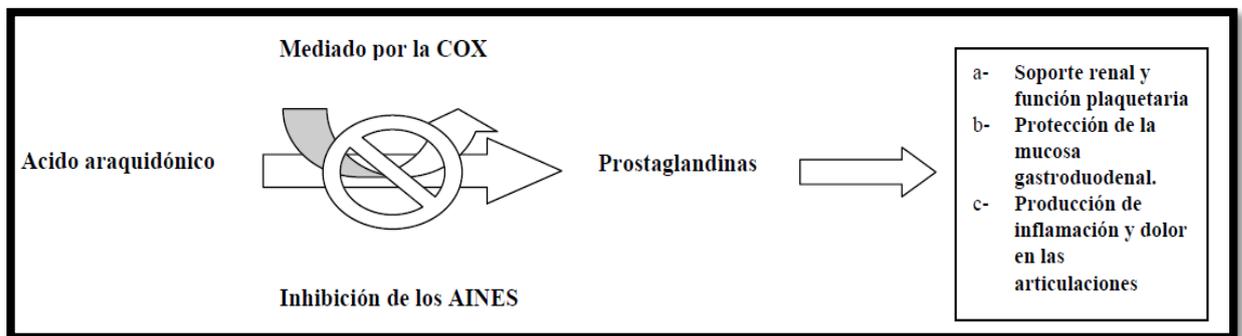


FIGURA N° 5. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AINES
FUENTE: HUANG.S. RHEUMATOLOGY. BASICS OF THERAPY.CMAJ.2000

1.2.3 MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDEOS

Son hormonas producidas por la corteza adrenal o semisintéticos. Los corticoesteroides (cortisona) son hormonas que tienen propiedades antiinflamatorias e inmunoreguladoras, estas hormonas controlan una gran variedad de funciones metabólicas en el organismo. Los corticoesteroides se producen en forma sintética para reducir la inflamación y suprimir la actividad del sistema inmunológico. El más importante es la prednisona. (54)

El uso de medicamentos antiinflamatorios se ha visto limitado por problemas de estómago desde el principio de su uso, como, por ejemplo, el riesgo de úlcera gástrica aumenta casi diez veces al utilizar de forma frecuentes los antiinflamatorios. (33)

1.2.4 OTROS ANTIINFLAMATORIOS

Otros Fármacos con propiedades antiinflamatorias leves o de efecto indirecto son algunos Antihistamínicos H1. Pero el mecanismo no es claro y muchos solo se han podido documentar en estudios in vitro. La colchinilla, medicamento para tratar la gota, tiene efecto antiinflamatorio al inhibir la respuesta tisular a los cristales de ácido úrico (54)

1.3 NAPROXENO SÓDICO

Es un AINE derivado del ácido propiónico utilizado en: tratamiento de enfermedades reumáticas, tales como: artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil. Tratamiento del dolor, tratamiento de artritis gotosa aguda o enfermedad aguda, depósito de pirofosfato de calcio, tratamiento de la fiebre, tratamiento de la dismenorrea, tratamiento y profilaxis del dolor de cabeza vascular. La FDA le asigna a un factor de riesgo durante el embarazo categoría B. (20)

1.3.1 ESTRUCTURA DEL NAPROXENO

El naproxeno es parte de la familia de los derivados del ácido arilacético. Entre las características tenemos: sustancia cristalina, sin olor, de color blanquecino. Su peso molecular es 230.2628. El naproxeno es soluble en grasas, prácticamente insoluble en agua con un bajo pH (por debajo de pH 4), pero muy soluble en el pH del agua superior o igual a 6. Presenta un punto de fusión de 153 ° C. (22)

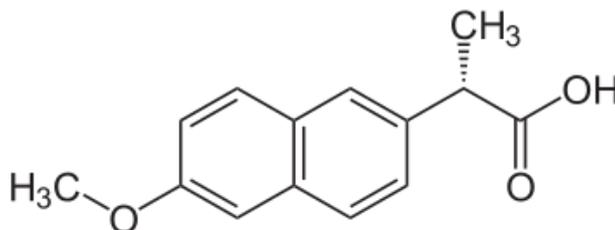


FIGURA N° 6. FORMULA DEL NAPROXENO

Fuente: Naproxeno <http://antiinflamatorios.net/naproxeno/>

1.3.2 MECANISMO DE ACCIÓN

El naproxeno inhibe la ciclooxigenasa de manera inespecífica, por lo cual evita la conversión del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, los cuales se transforman en prostaglandinas, tromboxanos y mediadores de la inflamación circulantes autacoides y eicosanoides. (22)

Una vez que se inhibe la ciclooxigenasa y la síntesis de prostaglandinas, se reduce la liberación de sustancias y mediadores proinflamatorios. Puede también inhibir la quimiotaxis y la agregación de los neutrófilos y alterar la actividad linfocítica. (15)

1.3.3 EFECTOS ADVERSOS

Los síntomas más frecuentes están relacionados con el sistema digestivo que se presentan entre el 1 al 10% de los pacientes como náuseas, dolor abdominal, pirosis y dispepsia. También pueden presentarse mareos, cefalea y somnolencia. Eventos reportados con menor frecuencia (del 1 al 3%) son diarrea, y úlcera digestiva. Las alteraciones de las pruebas hepáticas se presentan en < 1% de los pacientes. (53)

1.4 PLANTAS MEDICINALES CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Muchos procesos inflamatorios son acompañados de anemia y repetidas hemorragias, pero la afectación local y sistémica del hierro en el área inflamada y la disponibilidad de este hierro es desconocida; aunque se piensa que a pesar de su toxicidad local, la acumulación de hierro en áreas inflamadas puede ser interpretada como un mecanismo protector contra la reacción de los radicales oxidativos inducidos por su metabolismo. (59).

Las plantas que contienen este y otros oligoelementos pueden contribuir con la actividad antioxidante y antiinflamatoria.

Existen plantas como la *Bonafousia sp*, *Croton menthodorum*, *Heisteria acuminata*, *Marsdenia condurango* y *Piperlenticellosum* que son usadas en el Ecuador para diferentes enfermedades inflamatorias. Extractos alcohólicos de estas plantas, administrados por vía oral, fueron evaluados utilizando el test del edema de la pata de los ratones inducido por carragenina y se comprobó el efecto antiinflamatorio que ha sido reportado por la población. (43)

A estos extractos etanólicos se les realizó cromatografía de capa delgada con la finalidad de analizar sus componentes. En ellos se encontraron cumarinas, taninos, saponinas y flavonoides, sustancias que presentan actividad antioxidante. (59) (28)

Un extracto fluido de caisimón de anís (*Piper auritum*) fue evaluado con el método del edema de la pata de la rata inducido por carragenina. Se obtuvo que una dosis de 816,09 mg/kg provoca una inhibición en la formación del edema en 50 %.¹⁵ En estudios químico-farmacéuticos realizados a la planta se encontró la presencia de aceites, alcaloides, aminos, azúcares reductores, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos esteroides en las hojas y el fruto. (60)

1.5 PRUEBAS IN VIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

1.5.1 PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA

Consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autocoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar (natural o sintético) se puede administrar vía intraperitoneal, oral. (15)

Una hora después de la administración del producto a ensayar, los mediadores químicos son: la histamina y la serotonina tienen un papel principal. Después de la inyección de carragenina, en un tiempo de 1 a 2 horas intervienen las cininas como mediadores. La última fase de la inflamación está mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2). (25)

Obteniendo de esta manera una respuesta vascular máxima ocurre 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. (19)

La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonuclear es, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente. La estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. (19)

La inflamación producida por la Carragenina se debe fundamentalmente a que esta sustancia estimula la producción de prostaglandina las cuales derivan del metabolismo del ácido araquidónico. y promueven los procesos inflamatorios-inmunológicos y angiogénicos. (19)

1.5.1.1 CARRAGENINA

El carragenano se obtuvo por primera vez en forma pura en 1844, mediante extracción en medio alcalina y precipitación con alcohol, sistema que, entre otros, aún se utiliza.

Es un hidrocoloide extraído de algas marinas rojas de las especies *Gigartina*, *Hypnea*, *Eucheuma*, *Chondrus* y *Iridaea*. Es utilizada en diversas aplicaciones en la industria alimentaria como espesante, gelificante, agente de suspensión y estabilizante. (36)

La carragenina cuando produce la inflamación se debe a la producción de prostaglandina, las cuales derivan del metabolismo del ácido araquidónico y promueve los procesos inflamatorios-inmunológicos y angiogénicos.

Para poder anular la inflamación producida por la carragenina puede utilizarse un AINES que bloquea la síntesis de prostaglandina, y ayuda a la reducción de la inflamación. (36)

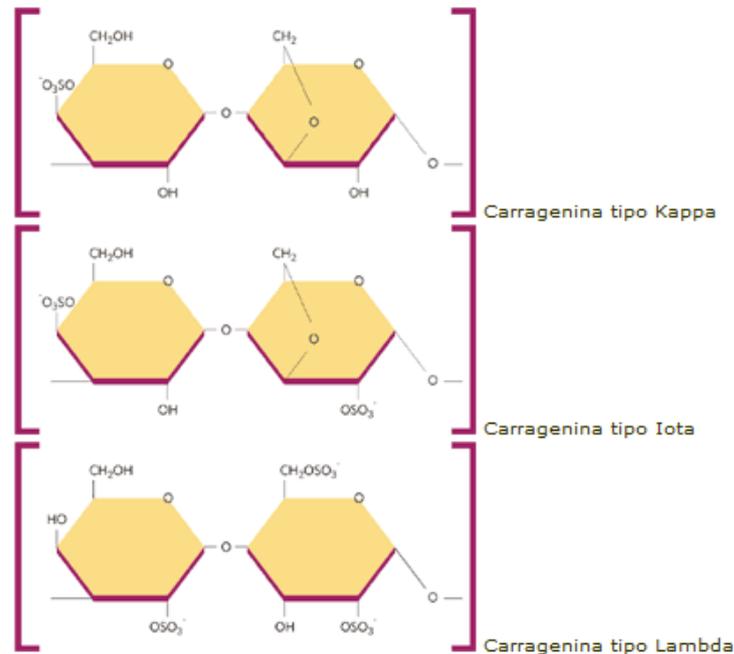


FIGURA N° 7. ESTRUCTURA DE LA CARRAGENINA

FUENTE: CARRAGENINA. <http://www.agargel.com.br/carragenina-tec.html>

1.5.1.1.1 Propiedades

Son solubles en caliente, a temperaturas del orden de 80 °C, y se mantienen en disolución al enfriar, si se encuentran en forma de sal sódica. A pH neutro, el calentamiento prácticamente no le afecta, aunque las cadenas se rompen por hidrólisis cuando se calienta en medio ácido, especialmente por debajo de pH 3,5. La viscosidad depende del tipo concreto, pero se ve relativamente poco influida por la presencia de sales. (63)

Este tipo de carragenano mejora las propiedades de los geles de almidón, evitando la sinéresis y obtener geles mucho más resistentes. (63)

1.5.1.2. *Rattus norvegicus*

Es una especie de roedores comunes con amplia distribución. El animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que padece necesidades y sufre dolor, por ley es obligación del personal (investigador) que lo cuida, mantiene y utiliza, asegurar su bienestar y confort mientras viva. Presentan una coloración parda o gris oscura en las partes superiores, con pelos negros alternados y un color más claro grisáceo en el vientre. (17)

TABLA N° 4. TAXONOMÍA (*Rattus norvegicus*)

TAXONOMÍA	
Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Familia	Muridae
Nombre científico	<i>Rattus norvegicus</i>

FUENTE: http://www.europe-aliens.org/pdf/Rattus_norvegicus.pdf

1.5.1.2.1. Macroambiente y Microambiente

Las condiciones ambientales y de manejo óptimos que aseguren la salud y la comodidad de especímenes, de modo que sus patrones metabólicos y de comportamiento se mantengan normales y estables, dando respuestas confiables.(53)

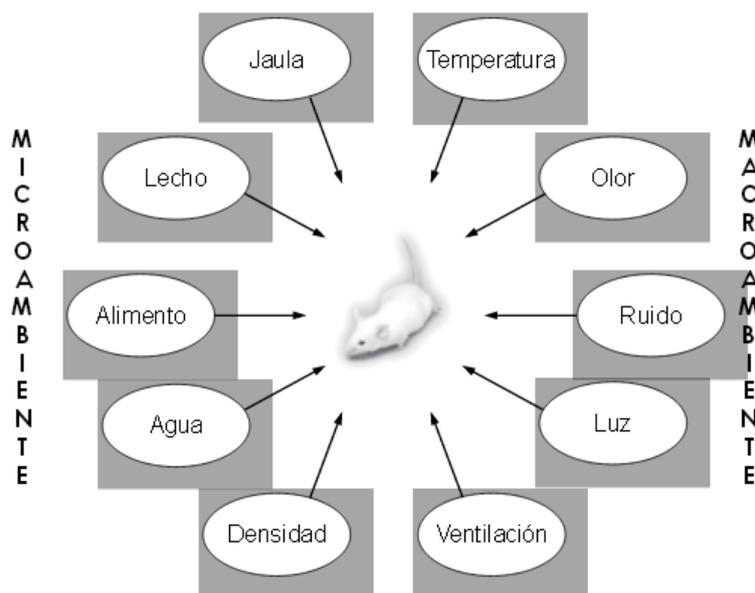


FIGURA N° 8. MACROAMBIENTE Y MICROAMBIENTE

FUENTE: www.harlan.com/models/balbc.asp

- ALIMENTACIÓN

Se basa generalmente en alimento balanceado pellets y agua ad libitum

- CICLO REPRODUCTIVO

Es durante todo el año ya que las hembras son poliéstricas y pueden tener entre 1 y 12 camadas al año; presentan estro posparto. Las hembras son receptivas por un período de 20 horas, cada 4 a 6 días. (17)

- CAMADA

El tamaño de la camada es de 2 hasta 22 crías; promedio 8 a 9. Las crías son destetadas a los 22 días. Madurez sexual: Entre 2 y 3 meses.

Las ratas son muy sensibles a los sonidos ultrasónicos ya que les provocan lesiones audiogénicas, la luz un importante factor de regulación de las actividades fisiológicas ya que puede provocar atrofia de retina. (32)

En las investigaciones el uso de animales de experimentación el protocolo está basado en el «principio de las tres erres» (reducción, refinamiento y reemplazo):

1. **Reducción:** estrategia encaminada a utilizar el mínimo número de animales necesario para alcanzar el objetivo propuesto en el procedimiento.
2. **Refinamiento:** incluye la mayoría de aquellos procedimientos que afectan a la vida del animal de experimentación y permiten aliviar o reducir el posible dolor o malestar, es decir el bienestar animal.
3. **Reemplazo:** con la utilización de técnicas alternativas que puedan aportar el mismo nivel de información que el obtenido en procedimientos con animales, e incluso mejores resultados, y que no impliquen en absoluto la utilización de estos animales de experimentación. (17) (32).

1.6 TOXICIDAD AGUDA

La prueba de DL50 se introdujo por primera vez en 1927 por Trevan. El test DL50 proporciona información sobre la cantidad de sustancia necesaria para tener efectos no deseados en los humanos, en si en este test se cuestionan su fiabilidad, y sin embargo se sigue realizando. (69)

DL50 ha sido criticada tanto por razones científicas y de bienestar animal, y el procedimiento de prueba ha sido modificado en varias formas de reducir el número de animales necesarios, y para reducir el sufrimiento causado a cualquier animal utilizado. Esta modificación a la prueba LD50 clásica incluye el procedimiento de dosis fija. (41)

Los resultados obtenidos de este test varían significativamente debido a diferentes variables, tales como la especie animal, la cepa, la edad, el peso, el sexo, el estado de salud, la dieta, si el animal ha pasado una fase de ayuno antes del test, el método de administración, la temperatura, y el tipo de jaula. (41)

TABLA N° 5. FACTORES QUE INFLUYEN EN ENSAYOS DE DL50

Factor a considerar	Descripción
Especies	Diferencias metabólicas
Cepas	Deficiencias enzimáticas
Sexo	Nivel hormonal/preñación
Edad/Peso	Hígado/función renal: actividad microsomal enzimática
Medio ambiente	Alojamiento, manejo de humedad relativa, temperatura, actividad.
Dieta	Proteína: grasa, proporción
Modo de administración	Ruta/velocidad de administración
Formulación	Vehículo, volumen, pH, osmolaridad

FUENTE: [http://www.unc.edu/courses/2006spring/envr/132/001/Botham 2004.pdf](http://www.unc.edu/courses/2006spring/envr/132/001/Botham%202004.pdf)

La toxicidad aguda sirve de base para el establecimiento de un régimen de dosis para las investigaciones sobre la toxicidad aguda, subcrónica, crónica y con las dosis repetidas, para informar sobre el modo de acción del tóxico de la sustancia a estudiar. (41)

La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y autopsiados. En general, el test se realiza con 5 grupos de 10 animales de cada sexo, aunque existen algunos métodos abreviados que intentan reducir el número de animales a sacrificar. De tal manera aplicar el principio de las tres R. (69)

1.7 SANTA MARIA (*Piper peltatum*)

1.7.1 FAMILIA PIPERACEAE

Entre las características frecuentemente tenemos son arbustos aromáticos, rara vez como árboles, lianas o epifitos. Hojas alternas, enteras a menudo lobuladas en la base. Flores pequeñas, bisexuales o unisexuales, dispuestas en espiga opuestas a las hojas. Tienen 1-

10 estambres y carecen de pétalos y sépalos, su fruto es una baya carnosa con una sola semilla. (27) (35)

La familia de Orden Piperales que comprende 11 géneros y 1.200 especies, distribuidas por regiones tropicales de todo el mundo. Son árboles, arbustos, hierbas o bejucos, a veces epifitas, las trepadoras con raíces adventicias en los nudos. Algunas especies son aromáticas, con aceites esenciales (27) (24)

1.7.2 SINONÍMIA: *Pothomorphe peltata* (L.), *Lepianthes peltata* (L).



FIGURA N° 9. Piper peltatum L

Fuente: http://www.hear.org/details/piper_peltatum.htm

1.7.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Planta erecta hasta 2 m de altura casi totalmente herbácea y sus hojas son alternas, enteras, suborbiculares, flácidas, de 16 a 35 cm de largo y de 14 a 34 cm de ancho, a menudo peltadas; agudas en el ápice, acorazonadas en la base, lampiñas o purulentas en los nervios en ambas caras, con finos puntos traslúcidos, con las venas palmeadas, el nervio central con uno o dos nervios pennados a cada lado; pecíolo lampiño de 8 a 20 cm de largo. (34) (40).

Flores en espigas umbeladas, sobre pedúnculos axilares; el pedúnculo común más corto que el pecíolo, de 1 a 7 cm de largo, lampiño o puberulento; espigas de 4 a 10, pedúnculos individuales de 7 a 12 mm de longitud. Brácteas peltadas, con el margen veloso-fimbriado. (40)

Flores sésiles perfectas. Estambres 2, filamentos filiformes cortos, anteras reniformes, 1-loculares. Ovario sésil; estigmas 2, sésiles, recurvados. Fruto de 0,5 a 0,6 mm de longitud, anguloso. (29)

TABLA N° 6. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

Taxonomía	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Piperales
Familia:	Piperaceae
Género:	<i>Piper</i>
Especie:	<i>P. peltatum</i>

Fuente: Callejas, R. Herbario Gabriel Gutiérrez V. MEDEL (7)

1.7.4 DATOS AGROTECNOLÓGICOS

1.7.4.1 Hábitat

Se da en los bosques o matorrales de tierras bajas húmedas o mojadas, a veces en segundo crecimiento, a 600 metros o más bajo. Generalmente en Guatemala. Sur de México hacia Panamá, Indias Occidentales. (29)

1.7.4.2 Altura y Distribución Geográfica

Desde México hasta Bolivia. En Panamá se ha registrado en climas húmedos de zonas bajas y elevaciones medias en todo el país. La floración es durante todo el año. Crece, además, en las otras Antillas y en la América tropical continental. (21)

1.7.4.3 Usos Medicinales

La parte más utilizada son las hojas y en ocasiones toda la planta. La planta actúa como rubefaciente, tónico estomacal, como remedio para edemas y escorbuto. Las hojas se colocan en la cabeza para aliviar el dolor de cabeza. Cuando es aplicada en cataplasmas es emoliente y madurativa. El cocimiento de las hojas alivia la inflamación de los testículos y otras inflamaciones. (29)

El cocimiento de las hojas se usa para inflamación linfática. Las hojas frescas son aplicadas como emolientes sobre el hígado, se dice que disuelve cálculos renales. Las hojas estrujadas, calientes se aplican en tumores y úlceras. (65)

El cocimiento de las raíces es muy estimado como un diurético potente y para el tratamiento de gonorrea. La hoja calentada, aplicada directamente se dice que cura espasmos musculares, dolor de estómago. Los baños del té de las hojas se usan como galactagogos. Las hojas secas se toman en infusión y se obtiene un efecto anticonceptivo. (65) (56).

1.7.4.4 Composición Química

De acuerdo a la revisión realizada se encontró metabolitos secundarios como: aceites esenciales del 1 al 2%, quinonas libres, alcaloides, terpenoides, cumarinas, flavonoides, taninos, aminos, resinas y azúcares reductores. (29)

1.7.4.5 Farmacología

Se utiliza para la malaria, como febrífugo, para inducir el aborto, problemas del hígado, mordida de serpiente, infecciones cutáneas, úlceras externas, urticaria, es digestivo, repelente de insectos, sudorífico, anticonceptivo, para el dolor estomacal y la diarrea (61)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

- Comprobación e identificación taxonómica: Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).
- Control de calidad de la droga: Laboratorio de Fitoquímica y análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria: Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Análisis Histopatológico: Laboratorio Histopatológico de SOLCA – Riobamba.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIA PRIMA

La materia prima (hojas), Santa María (*Piper peltatum*) fue recolectada a una altitud 1.285 m.s.n.m., temperatura promedio de 20°C, Humedad relativa entre 48 y 60 %, en época de verano, en la provincia de Chimborazo, Cantón Pallatanga, Parroquia Chillagoto, Barrio Chillagoto alto, para la posterior realización de los extractos.

2.2.2 REACTIVO BIOLÓGICO

En el estudio in vivo de la actividad antiinflamatoria se utilizaron ratas (*Rattus norvegicus*)

2.2.2.1 Descripción

Nomenclatura: Cr1 (WI) BR

Peso promedio: 325 – 389g

Edad: 4 a 5 meses

Sexo: Machos

Lugar de nacimiento: Bioterio de la Universidad Estatal de Guayaquil.

2.2.2.3 Condiciones Ambientales

Humedad relativa: 55% +/-10

Temperatura: 22°C +/- 2

Periodo: 12 horas de luz – 12 horas de oscuridad

Cama con viruta: cambio cada 48 horas

Alimento: Balanceado para roedor en forma de pellets (15g) y Agua ad libitum

2.2.3 EQUIPOS MATERIALES Y REACTIVOS PARA EL ANÁLISIS DEL VEGETAL

EQUIPOS

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

MATERIALES

- Balones aforados de 10, 25, 50 y de 100 mL
- Vasos de precipitación 50, 250 y 500 mL
- Pipetas volumétricas 1, 5, y 10mL
- Probetas 25 y 50 mL
- Trípode
- Varilla de agitación
- Reverbero
- Crisol
- Mortero con pistilo
- Capsulas de porcelana
- Matraces
- Embudo simple
- Mangueras
- Termómetro
- Envases estériles de vidrio 500mL
- Placas de vidrio
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Cánula
- Jeringuilla de 1 y 3 mL (NYPRO)
- Algodón
- Guantes, mascarilla, cubre zapatos
- Jaulas para ratas
- Cinta métrica

REACTIVOS

- Naproxeno sódico 550 mg
- Carragenina al 1% en suero fisiológico
- Éter dietílico
- Alcohol al 96°
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Cloroformo
- Hexano
- Agua Destilada
- Reactivos de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Fehling
- Hidróxido de sodio
- Amonio 5%
- Magnesio metálico
- Solución de carbonato de calcio
- Cloruro férrico
- Alcohol amílico
- Silica gel 60 F254 (Merck)
- Formol al 10%

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1 COMPROBACIÓN TAXONÓMICA

La comprobación e identificación taxonómica de las hojas de Santa María (*Piper peltatum*) fueron realizadas en el Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) quien certificó el ejemplar.

2.3.2. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La materia prima (hojas), Santa María (*Piper peltatum*) fue recolectada a una altitud 1.285 m.s.n.m., temperatura promedio de 20°C, Humedad relativa entre 48 y 60 %, en época de verano, en la provincia de Chimborazo, Cantón Pallatanga, Parroquia Chillagoto, Barrio Chillagoto alto.

Se descartó aquellas partes aéreas deterioradas, se lavó la planta con abundante agua y luego se desinfectó con Kilol DF 100, y se procedió al secado a una temperatura no mayor de 30 ± 5 °C, ya que se puede deteriorar algún compuesto químico presente en la planta.

2.3.3. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El material vegetal Santa María (*Piper peltatum*) luego de recolectar, se sometió a un proceso de limpieza y desinfección, que consta de la siguiente manera:

- Se descartó partes aéreas deterioradas tomando en cuenta el color y estado físico de la planta.
- Las hojas de Santa María fueron sometidos a limpieza, eliminando impurezas.
- Se lavó con agua, sumergiéndolas en un recipiente.
- Se dejó escurrir en un recipiente limpio por una hora.

- Una vez separadas las mismas, se lavó la planta con abundante agua potable para luego desinfectarlas con Kilol DF 100.
- Luego se secó en la estufa con aire circulante a una temperatura 30 ± 5 °C
- Se troceó las hojas en un recipiente limpio hasta obtener pequeñas partículas.
- Se almacenó la droga evitando contacto con luz y humedad en bolsas de plástico.

2.3.4. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS PARA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA

- **Extracto Etéreo y Etanólico**

Se pesó 50g de material vegetal seco y troceado se colocó en un recipiente de vidrio con 400 mL de solventes (1: éter dietílico y 2: etanólico), se cubrió completamente la planta y se dejó macerar por 48 horas, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) con agitación normal. Después se filtró y en un rotavapor, se concentró el extracto a casi seco a 50 °C. Se obtuvo de esta manera los extractos blandos: etéreo (1), etanólico (2). Los extractos obtenidos se colocaron en frascos ámbar y se dejó en refrigeración, hasta su uso. (Ver Anexo No. 14)

- **Extracto Acuoso**

Se pesó 50g de material vegetal seco y troceado se colocó en un recipiente de vidrio con 400 mL de agua destilada, se tapó completamente la planta y se deja macerar por 48 horas, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) con agitación normal. Después se filtró y se concentró el extracto a casi seco a 50 °C. El extracto se colocó en un frasco ámbar en el refrigerador. (Ver Anexo No. 14)

2.3.5. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

El control de calidad de la droga vegetal se lo realizó, en base a la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001) y Norma internacional.

Para el control de calidad de la droga cruda se realizó las siguientes pruebas:

- **Contenido de humedad:** método gravimétrico (pérdida por desecación en estufa).

- **Cenizas totales:** método gravimétrico (determinación en seco)

- **Cenizas solubles en agua:** método de calcinación.

- **Cenizas insolubles en ácido clorhídrico:** método de calcinación.

2.3.6 PARÁMETROS DE CALIDAD CUALITATIVO (TAMIZAJE FITOQUÍMICO)

El análisis del tamizaje fitoquímico se realizó en base a las Normas Ramales Drogas crudas. Extractos y tinturas. NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992. El análisis cualitativo se realiza para los siguientes metabolitos secundarios.

TABLA No. 7 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE METABOLITOS SECUNDARIOS

METABOLITO	ENSAYO
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner
Triterpenos y esteroides	Lieberman – Buchard
Flavonoides	Shinoda
Fenoles y taninos	Cloruro férrico
Saponinas	Espuma
Azúcar reductores	Felhing
Compuestos Grasos	Sudan III
Quinonas	Borntrager
Cumarinas	Baljet
Flavonoides	Antocianidinas
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Mucilagos	Mucilagos
Principios amargos	Sabor

FUENTE: NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992

2.3.7 PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO

La determinación de los parámetros de calidad del extracto etanólico, se realizó en base a las Normas Ramales Drogas Crudas. Extractos y Tinturas. NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992. Los parámetros de calidad son:

- Requisitos organolépticos.
- Densidad relativa
- Índice de refracción
- pH de extractos
- Sólidos totales: método gravimétrico (Estufa)

2.4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

La detección de flavonoides y alcaloides se llevó a cabo según la técnica de cromatografía de capa fina de Wagner H. 1996.

- Se usó extracto etanólico concentrado para la cromatografía
- Se aplicó 10 μ L del concentrado etanólico en una placa cromatografía de silica gel 60 F₂₅₄ con ayuda de un capilar.
- Se dejó secar después de cada aplicación.
- Se colocó la placa en la cuba cromatografía, hasta que el solvente recorra $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Se retiró de la cuba y se dejó secar para luego observar en la lámpara UV 365nm
- Se reveló la placa y se dejó secar, calentando en el reverbero.
- Se observó la fluorescencia coloreada nuevamente a la luz UV (366nm), después de revelado con los reactivos correspondientes.

2.4.1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA FLAVONOIDES

Adsorbentes: Silica gel 60 F₂₅₄

Sistema de solventes: cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelador: Sulfato de Cerio

2.4.2. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA ALCALOIDES

Adsorbentes: Silica gel 60 F₂₅₄

Sistema de solventes: Trietilamina – Cloroformo – Tolueno (10:20:70)

Revelador: Reactivo Wagner

Calculo:

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

2.5 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTÓMETRICA PARA FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE RUTINA

El análisis del contenido de flavonoides en extracto etanólico fue medido por espectrofotometría UV- visible, según el método de Shin et al., con ligeras modificaciones.

- Se tomó una alícuota de 500 µL de extracto y se colocó en un tubo con 400 µL de agua bidestilada.
- Se añadió 38 µL de NaNO₂ al 5% p/v, se homogenizó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5min.
- Luego se añadieron 38µL de AlCl₃ al 10% p/v, se agitó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 6min.
- Para finalizar se agregó 250 µL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250µL con agua bidestilada.

- La absorbancia de la reacción fue medida inmediatamente a 510 nm en un espectrofotómetro UV – visible.
- La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de rutina a diferentes diluciones.

Los resultados se expresaron como mg de rutina por gramo de tejido vegetal.

2.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS SANTA MARIA (*Piper peltatum*)

La investigación se llevó a cabo en el Bioterio de la Facultad de ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El método utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria se realizó mediante la Prueba del edema a la Carragenina según Winter.

El método se fundamenta en la inyección de carragenina bajo la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata, en la que provoca una reacción inflamatoria que puede ser reducida por las sustancias antiinflamatorias a investigar. En la mayoría de estos modelos permite llegar a evaluar la actividad más no el mecanismo implicado en el proceso antiinflamatorio que presenta el vegetal a estudiar. Para la prueba del edema se prefiere carragenina y no otros irritantes, ya que el edema provocado esta menos modificado por factores ajenos a los de la inflamación. (30)

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se utilizaron 8 grupos de 3 ratas seleccionados aleatoriamente. La carragenina al 1% (0.05mL en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha) se inyectó 30 minutos después de la administración intragástrica de los extractos a estudiar, el vehículo utilizado fue Tween 80 al 1% y agua destilada, un grupo sirve como control (GAB) y recibió solamente el vehículo agua destilada más Tween 80 al 1% para que el metabolismo sea uniforme, otro grupo se denominó control positivo y se administra Naproxeno sódico 500mg (7mg/kg).

La evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó en ratas (*Rattus norvegicus*), Se les administró extractos etéreo, etanólico, acuoso, a diferentes dosis de 1mg/kg, 2mg/kg, 3mg/kg respectivamente, se realizó un pre ensayo de los diferentes extractos con distintos solventes de polaridad creciente, una vez concluido con el pre ensayo se determinó que el extracto de mayor actividad fue el etanólico, posterior a esto se realizó el ensayo con dos concentraciones para establecer la dosis efectiva para la actividad antiinflamatoria.

Las mediciones se realizaron a las 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la inducción del edema plantar con carragenina, posteriormente se calculó el volumen de cada medición y se realizó el promedio de las tres replicas.

Para evaluar la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa María (*Piper peltatum*), se realizó mediante cinco etapas:

ETAPA 1: PERÍODO DE AMBIENTACIÓN

Se ambientó a todos los animales por grupos a las mismas condiciones ambientales y de alimentación de acuerdo al protocolo de investigación.

Temperatura: 22 °C +/- 2

Humedad: 50 % +/-10

Período de fotoluminiscencia: 12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad

Alimentación: 15g al día

Periodo de tiempo: 7 días

Los animales de experimentación se ambientan al investigador y a la técnica que se va a realizar mediante manipulación y adaptación.

ETAPA 2: MODELO EXPERIMENTAL

En la siguiente tabla se indica los ensayos realizados a cada grupo con tres repeticiones para determinar la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa María (*Piper peltatum*). Los animales de experimentación fueron seleccionados aleatoriamente para formar 8 grupos de tres ratas que servirán como Blanco, Control Negativo, Control Positivo y Experimento Neto.

Se mide cada hora el volumen de la inflamación en la aponeurosis plantar de la rata. Se aplica el principio de las 3 R (reducción, refinamiento y reemplazo), para el estudio se utiliza 28 animales de experimentación.

TABLA No. 8 DENOMINACIÓN DE GRUPOS PARA LA INVESTIGACIÓN

GRUPOS	REPETICIONES		
GAB	R ₁	R ₂	R ₃
GAP	R ₁	R ₂	R ₃
GAN	R ₁	R ₂	R ₃
GAE₁	R ₁	R ₂	R ₃
GAE₂	R ₁	R ₂	R ₃
GAE₃	R ₁	R ₂	R ₃
GAE₄	R ₁	R ₂	R ₃
GAE₅	R ₁	R ₂	R ₃

Fuente. MUÑOZ. M. 2013

Dónde:

GAB: Grupo Aleatorio Blanco, administración de vehículo

GAP: Grupo Aleatorio Positivo, administración de Naproxeno sódico 500mg (7 mg/Kg)

GAN: Grupo Aleatorio Negativo, administración 0.05 mL de carragenina al 1%

GAE₁: Grupo Aleatorio Experimental Extracto etéreo 60% (2mg/Kg)

GAE₂: Grupo Aleatorio Experimental Extracto etanólico 60% (2mg/Kg)

GAE₃: Grupo Aleatorio Experimental Extracto acuoso 60% (2mg/kg)

GAE₄: Grupo Aleatorio Experimental Extracto etanólico 30% (1mg/kg)

GAE₅: Grupo Aleatorio Experimental Extracto etanólico 90% (3mg/kg)

ETAPA 3: Inducción del Edema en la aponeurosis plantas en ratas

Prueba del edema a la Carragenina según Winter

Los animales de experimentación fueron sometidos a un ayuno de 12 horas para que asimilen el extracto. Al grupo GAN se inyectó carragenina 1% en suero fisiológico (0.05mL en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha), 30 min. Después de la administración intragástrica de la sustancia a estudiar.

El volumen es medido (largo y diámetro) de la pata posterior derecha a la 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas, después de la administración 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.

ETAPA 4: TRATAMIENTO

Grupo Aleatorio Positivo (GAP) se le administró 1 mL de solución de Naproxeno sódico de 500mg a una concentración 7mg/kg por vía oral empleando jeringas con una cánula adaptada que sirve como sonda orogástrica.

El vehículo utilizado fue agua destilada más Tween 80 al 1%. Media hora después se administró 0,05 mL de carragenina 1%. Posteriormente se mide el volumen de la pata posterior derecha desde el inicio hasta el final de la investigación.

Medir el volumen (largo y diámetro) de las patas a las 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas.

ETAPA 4: GRUPO EXPERIMENTAL

- **GAE₁:** Grupo Aleatorio Experimental 1, se administró 1ml del extracto etéreo al 60% el vehículo es agua destilada más Tween 80 al 1%.
- **GAE₂:** Grupo Aleatorio Experimental 2, se le administró 1ml del extracto etanólico al 60% el vehículo es agua destilada más Tween 80 al 1%.
- **GAE₃:** Grupo Aleatorio Experimental 3, se administró 1ml del extracto acuoso al 60% el vehículo es agua destilada más Tween 80 al 1%.
- **GAE₄:** Grupo Aleatorio Experimental 4, se administró 1ml del extracto etanólico al 30% el vehículo es agua destilada más Tween 80 al 1%.
- **GAE₅:** Grupo Aleatorio Experimental 5, se administró 1ml del extracto etanólico al 90% el vehículo es agua destilada más Tween 80 al 1%.

La medida del volumen de la pata posterior derecha inflamada se realizó con una cinta métrica (largo y diámetro). Las medidas fueron tomadas cada hora desde la hora 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la inyección de carragenina.

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

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

Dónde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

$\pi = 3.14$

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

$$\% \mathbf{Inhibicion} = \frac{\text{Vol. Control} - \text{Vol. Problema}}{\text{Vol. Control}} \times 100$$

Dónde:

Vol. Control = volumen de la pata inflamada a un tiempo x

Vol. Problema= volumen del grupo problema

2.7 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SANTA MARIA (*Piper peltatum*)

La prueba más común de toxicidad aguda involucra la determinación de la dosis letal media (DL50) del compuesto en estudio. La dosis letal media está definida como una expresión estadísticamente derivada de una sola dosis de una sustancia que previsiblemente matara al 50% de los animales. (41)

2.7.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Aleatoriamente se conformó un grupo de cuatro ratas, de seis meses de edad, de 355 ± 10 g de peso, dejándolos en ayunas por 24 horas con agua *ad libitum* y mantenidos a temperatura $22^{\circ} \text{C} \pm 2$. Los cuales se encontraron aptos para realizar el estudio de toxicidad aguda por vía oral.

Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos y durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, para ir recogiendo signos que son indicativo de la toxicidad aguda.

TABLA No. 9 VALORACIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA

Signos de Toxicidad	
Actividad general	Enderezamiento
Grito	Tono corporal
Irritabilidad	Convulsiones
Respuesta al toque	Lagrimación
Huida	Micción
Contorsiones	Defecación
Patas posteriores	Piloerección
Número de muertos	

FUENTE. SIGNOS DE LA TOXICIDAD. <http://www.mma.gob.cl/retc/1279/article-42172.html>

Así los parámetros, cuyos valores iniciales reciben una anotación de 0, en el caso de desaparición de una respuesta analizada o un aumento del efecto analizado, que puede tener máximo 4.

Se controla el peso corporal de los animales de experimentación en los días 1, 7 y 14 del experimento como uno de los parámetros demostrativos de toxicidad. Finalizado los 14 días de estudio se procedió a realizar las necropsias de los órganos farmacocinéticos más importantes de cada fitotratamiento.

Los pesos de los ratones en sus diferentes tiempos se procesaron estadísticamente para obtener la media. (69)

Para determinar la DL₅₀ los datos obtenidos anteriormente se analizan utilizando el método de Karber y Beherens.

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

Dónde:

D_f = Primera dosis que mata a todos los animales de un grupo.

a = Suma de muertos de dos lotes consecutivos.

b = Diferencia entre dosis consecutivas entre lotes, expresada en mg.

n = Número de animales por lote.

2.7.2 EXÁMEN ANATOMOPATOLÓGICO

Los animales de experimentación después del análisis fueron sacrificados, mediante eutanasia con CO₂. Fueron sometidos a necropsia macroscópica y todas las alteración son registradas como: color, peso y tamaño como: largo, ancho y profundidad, se registró tanto del estómago, hígado y riñones. Las muestras tomadas fueron colocadas en envases herméticos que contenían formol buferado al 10% para su posterior análisis histopatológico.

2.7.3 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO

A las muestras recolectadas de la investigación, se realizó el estudio histopatológico, luego se preparó las placas para su posterior observación microscópica para determinar, el daño a nivel tisular ocasionado por los diferentes extractos administrados.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. CONTROL FISICO - QUIMICO DE LA DROGA CRUDA

Se procedió hacer el control de calidad de la droga cruda seca y triturada, los rangos de las especificaciones establecidas están dadas por las Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos y Farmacopea Británica y Brasileña (2010).

CUADRO No. 1 RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)². LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

Parámetro	Resultado	Especificaciones NEFT
Determinación de humedad	7.30%	10%
Determinación de cenizas totales	6.5	12 %
Determinación de cenizas solubles en agua	4.7	7%
Determinación de cenizas insolubles en ácido	2.1	5%

Los datos obtenidos en el cuadro No.1 están dentro de los rangos establecidos según la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001) y Farmacopea Británica y Brasileña (2010). Lo cual indica que los parámetros físicos – químicos están dentro de las especificaciones para garantizar la calidad de la droga vegetal.

3.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico, permite determinar cualitativamente los principales compuestos químicos presentes en la planta, la evaluación es rápida, con reacciones sensibles, reproducibles, se realiza con solventes adecuados y mediante la aplicación de reacción de color y precipitado.

CUADRO No. 2 RESULTADOS DE CALIDAD CUALITATIVO (TAMIZAJE FITOQUIMICO) SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)”. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Alcaloides	Dragendorff	(+)	(++)	(+)
	Wagner	(+)	(++)	(+)
	Mayer	(+)	(++)	(+)
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Buchard	(++)	(++)	
Flavonoides	Shinoda		(+++)	(++)
Taninos y Fenoles	Cloruro férrico		(+++)	(+++)
Saponina	Espuma		(-)	(-)
Azúcares Reductores	Fehling		(++)	
Compuestos Grasos	Sudan III	(+)		
Quinonas	Borntrager		(+)	
Cumarinas	Baljet	(-)	(+)	
Catequinas	Catequinas		(-)	
Resinas	Resinas		(+++)	
Mucílagos	Mucílagos			(-)
Flavonoides	Antocianidinas		(-)	

(-) SIN EVIDENCIA, (+) BAJA EVIDENCIA, (++) MODERADA EVIDENCIA, (+++) ALTA EVIDENCIA.

El análisis fitoquímico se llevó a cabo en tres extractos con distintos solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr un mayor agotamiento de la droga del material vegetal seco. Solo se extrae metabolitos secundarios de acuerdo a su solubilidad. Los solventes utilizados son: éter dietílico, etanol 96% y agua.

Cada solvente utilizado va extraer principios activos de polaridad semejante es decir el éter dietílico al ponerse en contacto con la droga va extraer compuestos liposolubles, el etanol al 96% al tener una polaridad intermedia compuestos afines. El agua extrae compuestos hidrofílicos.

En el tamizaje fitoquímico se realizó la determinación los siguientes compuestos químicos como: alcaloides, flavonoides, quinonas, triterpenos, cumarinas, taninos, fenoles, resinas, azúcares reductores. (MEJIA, M. 2009). (25)

Estos metabolitos encontramos en el extracto etanólico al 96%, lo cual se debe a la polaridad intermedia que permite extraer mayor cantidad de compuestos afines. (Ver Anexo No. 15)

3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTO ETANÓLICO DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)

El control de calidad se realizó sobre el extracto blando de hojas de Santa María (*Piper peltatum*) obtenido por maceración con alcohol al 96%.

3.3.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO.

CUADRO No. 3 DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

Parámetro	Resultado
Aspecto	Líquido pegajoso
Olor	Picante
Color	Verde oscuro
Sabor	Amargo

En el cuadro N° 3 nos indica las características organolépticas de Santa María (*Piper peltatum*), el extracto analizado tiene sus propias características, siendo líquido pegajoso, color verde oscuro, sabor amargo y de olor picante característico a su especie.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO.

CUADRO N° 4. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

Parámetro	Resultado
pH	5.89
Densidad relativa	0.8740 g/mL
Índice de refracción	1.372
Sólidos totales	3.74%

En el cuadro No. 4 indica los parámetros físicos del extracto etanólico, obteniendo un pH 5.89 que es poco ácido lo cual indica que los compuestos químicos presentes como los flavonoides, alcaloides, ácidos grasos entre otros, no se modifican de tal forma proporcionan estabilidad y solubilidad, conservando de esta manera su actividad.

El índice de refracción fue de 1.372 es mayor en comparación con el índice de refracción del agua 1.333, lo cual nos indica la presencia de sustancias disueltas.

La densidad relativa fue de 0.8740 g/mL comparándolo con la densidad del solvente empleado para la preparación del extracto, siendo de 0,789 g/mL; es decir es mayor lo cual indica que en el extracto existen sustancias en disolución.

Porcentaje de sólidos totales permite estimar la cantidad de materia disuelta, mide específicamente el total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos) fue de que abarca sales y residuos orgánicos fue de 3.74 %, lo que nos indica la gran cantidad de metabolitos secundarios extraídos por el solvente empleado para la maceración.

3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Mediante el análisis cromatográfico en capa fina, se puede determinar los posibles compuestos presentes en el extracto.

3.4.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA FLAVONOIDES

CUADRO No. 5 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES SEGÚN SU Rf EN CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

Manchas observadas	Cálculo Rf	Compuesto
1	$Rf = 3.4/7.8 = 0.44$	Quercetina
2	$Rf = 7.1/7.8 = 0.91$	Kaempferol

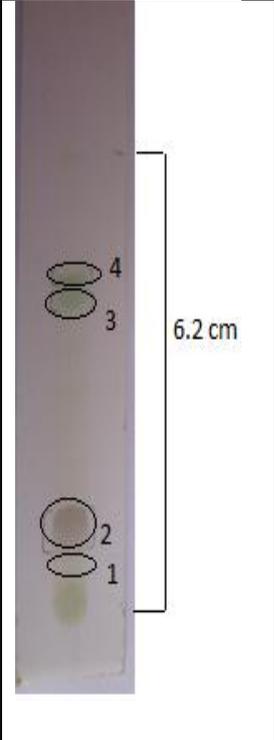
En el cuadro No. 5 nos indica la distancia recorrida y el posible compuesto al que pertenece, se obtuvo una coloración que varía de morado a café. Debido a la presencia del flavonoide que posiblemente sea quercetina y Kaempferol.

Para realizar su identificación se comparó los Rf encontrados con los citados en Wagner H. 1996. Y no con estándares. (Ver Anexo No 7)

En estudios realizados en la familia Piperaceae indica la presencia de quercetina y Kaempferol respectivamente los cuales son responsables de la actividad antioxidante. (REGASINI, L. 2008)

3.4.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA ALCALOIDES

CUADRO N° 6. DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES SEGÚN SU Rf EN CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

	Manchas observadas	Cálculo Rf	Compuesto
	1	$Rf = 1.2/6.2 = 0.19$	Capsaicina
	2	$Rf = 2.9/6.2 = 0.47$	Piperina
	3	$Rf = 3.6/6.2 = 0.58$	Isómeros de Piperina
	4	$Rf = 4.5/6.2 = 0.73$	Piperaesthin

En el cuadro No. 6 se indica los Rf de los compuestos encontrados que posiblemente son: Capsaicina, Piperina, Isómeros de la piperina, piperaesthin.

Para realizar su identificación se comparó los Rf encontrados con los citados en Wagner H. 1996. Y no con estándares. (Ver Anexo No 8)

En estudios realizados en la familia Piperaceae indica la presencia de alcaloides piperina, pipaesthin y capsaicina respectivamente. Piperina presente tiene actividad antiinflamatoria, antiparasitaria. (MARTÍNEZ, A. 2011)

3.5 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTÓMETRICA PARA FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE RUTINA

Para la cuantificación de flavonoides se utilizó como estándar de referencia rutina a diferentes concentraciones. (Ver Anexo No. 6 – 16)

Mediante la aplicación de la ecuación en la curva de calibración se determinó el contenido de flavonoides totales en el extracto etanólico de Santa María (*Piper peltatum*) con un valor de 2%, cuyo valor está dentro de los rangos establecidos 0.1-2% para principio activo presente en plantas. (LOCK, O. 1994)

3.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA.

El resultado de la evaluación de la actividad antiinflamatoria en ratas (*Rattus norvegicus*), Se les administró extractos etéreo, etanólico, acuoso, a diferentes dosis de 1mg/kg, 2mg/kg, 3mg/kg respectivamente. Los datos obtenidos del promedio de las tres replicas se detallan en el cuadro No. 7. (Ver Anexo 12)

CUADRO No. 7 RESULTADOS DEL VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

VOLUMEN DE INFLAMACIÓN								
TIEMPO	GAB	GAN	GAP	GAE1	GAE2	GAE3	GAE4	GAE5
1	2,39 ±0,26	3,49 ±0,28	3,58 ±0,11	3,46 ±0,08	3,49 ±0,33	3,79 ±0,38	4,04 ±0,85	3,45 ±0,03
2	2,39 ±0,26	4,91 ±0,07	3,04±0,38	3,26 ±0,05	4,13 ±1,06	5,14 ±5,14	4,09 ±0,27	3,74 ±0,13
3	2,39 ±0,26	5,43 ±0,52	2,97 ±0,16	5,76 ±0,66	4,36 ±1,09	5,22 ±0,44	5,08 ±0,43	4,04 ±0,28
4	2,39 ±0,26	5,37 ±1,00	2,97 ±0,16	4,87±0,26	4,4 ±0,72	5,05 ±0,39	4,71 ±0,53	3,89 ±0,40
5	2,39 ±0,26	5,29 ±1,05	2,97 ±0,16	4,8±0,48	4,47 ±0,61	4,88 ±0,29	4,55 ±0,26	3,89 ±0,40
6	2,39 ±0,26	5,29 ±1,05	2,97 ±0,16	5,48±0,41	4,72 ±0,63	5,23 ±0,36	4,55 ±0,26	3,89 ±0,40

± Desviación estándar. $p < 0,05$

En el cuadro No. 7 se observa el volumen de inflamación promedio de todos los animales de experimentación, es decir se puede visualizar el comportamiento de cada grupo tratado en comparación con el grupo control positivo, el que se asemeja más es el grupo aleatorio experimental 5 (3mg/kg).

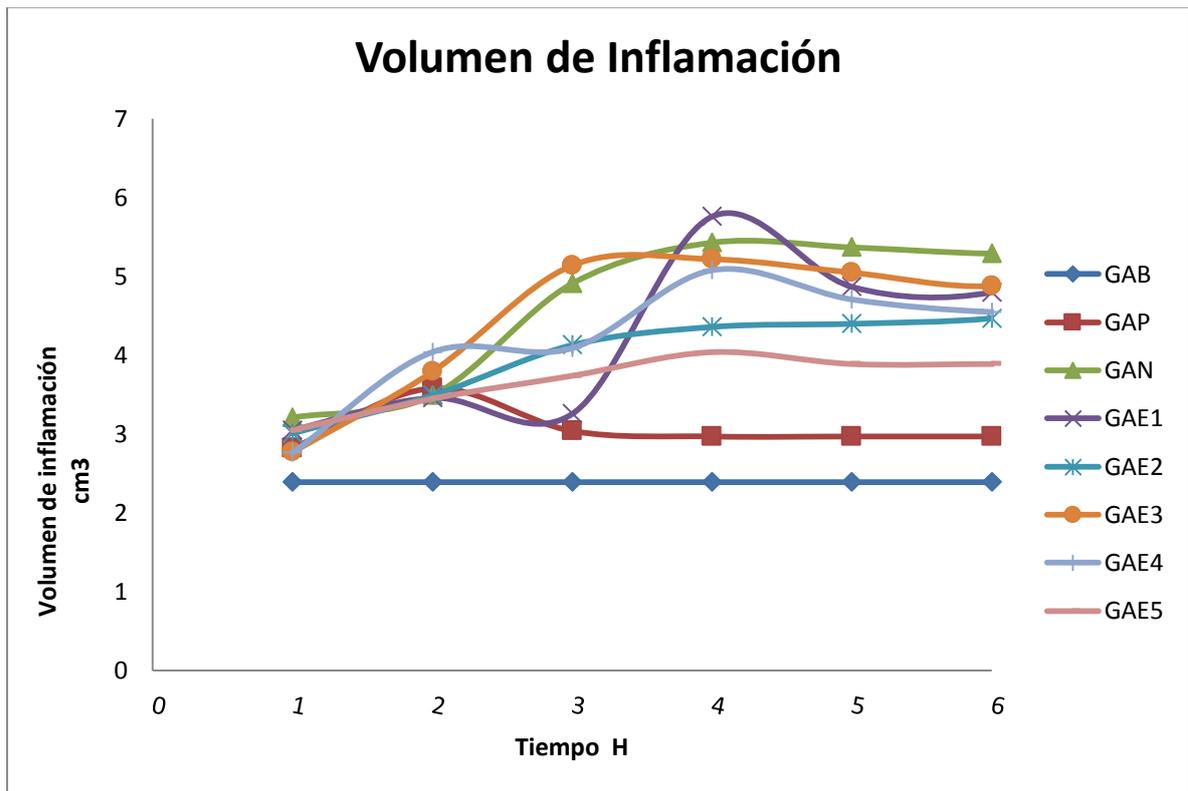


GRAFICO No. 1 RESULTADO DE VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS VS TIEMPO. DE EXTRACTOS SANTA MARÍA (*Piper peltatum*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

El Grafico No. 1 indica el volumen de inflamación de los grupos de ensayo, teniendo un valor máximo de inflamación a la cuarta hora de 5.37 cm^3 que pertenece al grupo aleatorio negativo, que coincide con la fase mediada por las prostaglandinas, el grupo aleatorio positivo presenta un volumen de 3.58 cm^3 . Con respecto a los grupos tratados el volumen que presenta: GAE1 (5.76 cm^3), GAE2 (4.72 cm^3), GAE3 (5.23 cm^3), GAE4 (5.08 cm^3), GAE5 (4.04 cm^3). De tal manera que el volumen inferior al grupo control presenta actividad antiinflamatoria ya que el edema va disminuyendo.

3.6.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron calculados mediante la fórmula del porcentaje de inhibición. Para la elaboración de las gráficas se utilizó el programa Microsoft office Excel 2007.

El análisis estadístico se realizó comparando los promedios de cada grupo utilizando el test Anova (análisis de varianzas) y el de Tukey HSD al 95% de significancia.

CUADRO N° 8. RESULTADOS DEL PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN							
TIEMPO	GAN	GAP	GAE1	GAE2	GAE3	GAE4	GAE5
1	0,00±0,0	2,58±0,03	0,85±0,03	0,00±0,00	-8,59±0,03	-15,76±0,03	1,15±0,03
2	0,00±0,0	38,09±0,17	0,2±0,17	15,89±0,17	4,68±0,17	16,70±0,17	23,83±0,17
3	0,00±0,0	45,3±0,16	-6,08±0,16	19,71±0,16	3,87±0,16	6,45±0,16	25,60±0,16
4	0,00±0,0	44,69±0,20	9,31±0,20	18,06±0,20	5,96±0,20	12,29±0,20	27,56±0,20
5	0,00±0,0	43,86±0,19	9,26±0,19	15,5±0,19	7,75±0,19	13,99±0,19	26,47±0,19
6	0,00±0,0	43,86±0,15	-3,59±0,15	10,22±0,15	1,13±0,15	13,99±0,15	26,47±0,15

± Desviación estándar $p < 0,05$

El cuadro N°8 indica el porcentaje de inhibición de los diferentes grupos tratados y la desviación estándar de cada grupo respectivamente. El comportamiento de cada grupo tratado en comparación con el grupo aleatorio negativo.

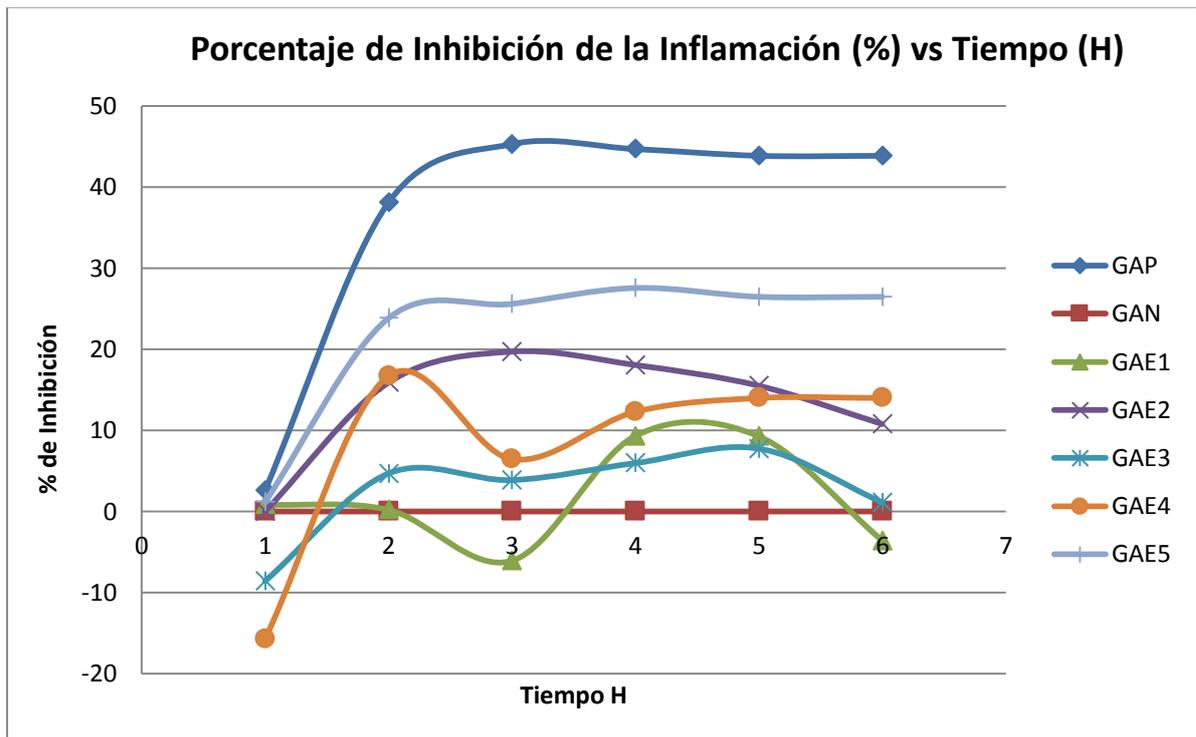


GRAFICO N° 2 PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

En el grafico N°2 se describe el porcentaje de inhibición de grupos tratados en los diferentes tiempos.

El porcentaje de inhibición a la primera hora de administración del extracto, podemos observar la presencia de valores positivos: GAP (2.58%), GAE5 (1.15%), GAE1 (0.85%), esto nos indica que la inflamación está disminuyendo por efecto de los diferentes tratamientos; y los valores negativos: GAE4 (-15.76%), GAE3 (-8.59%), nos revela que no existe aún el efecto en estudio (actividad antiinflamatoria).

A la segunda hora de administración del extracto, el porcentaje de inhibición del Grupo aleatorio positivo (38.09%) se acerca al grupo aleatorio experimental 5 (23.83%) lo cual nos indica que a la segunda hora ya tiene similar actividad antiinflamatoria.

Los demás grupos en tratamiento presentan porcentaje de inhibición menor en comparación con el GAP, el porcentaje de inhibición para los grupos en estudio fueron: grupo aleatorio experimental 2 (19.71%), grupo aleatorio experimental 4 (16.70%), grupo aleatorio experimental 3 (4.68%), y finalmente el grupo aleatorio experimental 1 (0.2%)

El porcentaje de inhibición en la tercera y cuarta hora tiene un comportamiento similar entre el grupo aleatorio positivo (45.3%), el grupo aleatorio experimental 5 (25.60%), En comparación con los demás grupos el porcentaje de inhibición es menor lo cual se debe que los extractos se encuentran en diferentes solventes y sus dosis son menores, y por ende sus metabolitos secundarios.

A partir de la cuarta hora de administración se mantiene constante el volumen de la aponeurosis plantar de la rata, y el porcentaje de inhibición, en algunos grupos empieza a mantenerse y en otros a disminuir ya que el tiempo de vida media del extracto empieza a descender.

El grupo aleatorio experimental 5 tiene similar actividad antiinflamatoria que el grupo aleatorio positivo Naproxeno sódico (7mg/kg). Es decir inhiben la liberación o acción de las prostaglandinas, esta actividad podría estar relacionada con la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas presentes en los extractos.

El grupo tratado que presentó porcentajes de Inhibición similares al medicamento fue el grupo aleatorio experimental 5 (3mg/kg), luego el grupo aleatorio experimental 4 (2mg/kg); los demás grupos son inestables ya que el porcentaje de inhibición es menor.

Haciendo una comparación con otros estudios realizados acerca de la familia piperaceae encontramos el extracto fluido de (*Piper auritum*) fue evaluado con el método del edema de la pata de la rata inducido por carragenina. Se obtuvo que una dosis de 816,09 mg/kg provoquene una inhibición en la formación del edema en 50 %.

En estudios químico-farmacéuticos realizados a la planta se encontró la presencia de aceites, alcaloides, aminos, azúcares reductores, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos esteroides en las hojas y el fruto. (60)

3.6.2 HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula: Que no existe diferencia significativa en el efecto antiinflamatorio entre los grupos tratados, el control negativo y el control positivo.

Hipótesis Alternativa: Que si exista diferencia significativa entre los grupos de estudio

Anova Un Factor					

Número de Casos:	21				

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor

Entre Grupos	3149.8360	6	524.9727	5.5713	0.0039
Dentro Grupos	1319.1940	14	94.2281		

Total (corr.)	4469.0300	20			

GRAFICO No. 3 APLICACIÓN DEL TEST ANOVA DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

En el grafico No. 3 indica la aplicación del test Anova de un factor, se encontró que existen diferencias significativas al 95% de confiabilidad en los grupos tratados: grupo aleatorio positivo, grupo aleatorio negativo y los grupos experimentales.

Se observa que $p < 0.05$ con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa estableciendo que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio.

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples			
=====			
Número de Casos:	21		
Método:	LSD al 95.00%		

	N	Media	Grupos Homogéneos

GAN	3	0.1000	X
GAE1	3	1.6600	X
GAE3	3	2.4700	X
GAE4	3	7.9400	X X
GAE2	3	13.3200	X X
GAE5	3	21.8500	X X
GAP	3	36.4000	X

GRAFICO No. 4 APLICACIÓN DEL TEST DE TUKEY DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). ESPOCH. SEPTIEMBRE 2013.

En el grafico No. 4 indica la aplicación del test de Tukey al 95% de significancia de los grupos homogéneos, se identifica claramente que el grupo aleatorio positivo presenta mayor porcentaje de inhibición de la inflamación seguido por el grupo aleatorio experimental 5, grupo aleatorio experimental 2, tan solo estos grupos presentan un comportamiento individualizado de inhibición de la inflamación los demás grupos de tratamiento que establecen un solo grupo homogéneo con la misma actividad antiinflamatoria.

Según la media de los grupos en estudio nos indica que el grupo aleatorio experimental 5 que corresponde al extracto etanólico (3mg/Kg), tiene similar actividad al grupo aleatorio positivo Naproxeno sódico (7mg/kg).

3.7 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARIA (*Piper peltatum*)

Para el análisis de la toxicidad aguda se le asignó códigos individuales a cada rata lo que permite una identificación correcta de cada animal de experimentación.

Dónde:

TA₁ = Toxicidad aguda rata experimental 1

TA₂ = toxicidad aguda rata experimental 2

TA₃ = toxicidad aguda rata experimental 3

TA₄ = toxicidad aguda rata experimental 4

Total de animales utilizados para el estudio de la toxicidad aguda 5 ratas (*Rattus norvegicus*) el tiempo de investigación es por 14 días, el estudio de toxicidad es en dosis simples con aplicación de la norma OCDE 423.

CUADRO N° 9. ANÁLISIS DE LOS SIGNOS EN LOS PRIMEROS 7 DIAS. EN RATAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)". BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA	TA ₁							TA ₂							TA ₃							TA ₄						
	DIAS							DIAS							DIAS							DIAS						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Actividad General	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Grito	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Respuesta al toque	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Huida	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Contorciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ratas posteriores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enderezamiento	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tono corporal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Convulsiones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lagrimación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Micción	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Defecación	4	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1
Piloerección	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muerte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

El cuadro No. 9 describe los signos de la toxicidad aguda, únicamente tomando los datos de los primeros 7 días de observación, no se incluyen los datos de los días posteriores puesto a que los animales de experimentación no presentaron ninguna reacción adversa. No se reportan datos del blanco ya que no existe ninguna modificación.

El cálculo del DL50 no puede ser calculado puesto que no hubo muerte de ningún animal en el transcurso del ensayo.

Lo cual nos indica que el extracto etanólico de Santa María (*Piper peltatum*), no posee un efecto tóxico a esta dosis administrada, no se puede estimar la dosis letal cincuenta en los animales de experimentación.

3.8 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)

Se realizaron los cortes histopatológicos del estómago, hígado, y de los riñones de cada animal de experimentación, luego se prepararon las placas para su posterior observación microscópica para determinar, el daño ocasionado por la dosis administrada.

CUADRO No. 10 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DE BIOPSIAS DE RATAS (*Rattus norvegicus*), QUE SE LES ADMINISTRÓ EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)” PARA EL ANÁLISIS DEL EFECTO TÓXICO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

MUESTRA	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
TB	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2.9 g Largo: 3.0 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.6cm	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal; calibre de los vasos adecuados. Muscularis mucosa conservada.
TB	Riñones Color: Rojo Vino Peso: 1.1 g Largo: 1.7 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.5cm	Nefronas de distribución normal; glomérulos de circulación adecuada; espacio de Browman y de calibre normal.
TB	Hígado Color: Rojo pardo Peso: 11.1 g Largo: 5.5 cm Ancho:4,1 cm Profundidad:0.6cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal, hepatocitos conservados espacios porta normales.

TA1	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2.6 g Largo: 2.1 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.6cm	Mucosa gástrica íntegra, no se observa lesiones focales ni erosivas. Muscularis mucosa conservada.
TA1	Riñones Color: Rojo Vino Peso: 1.2 g Largo: 2.0 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.4cm	Glomérulos con integridad de la capsula, túbulo de calibre normal, vasos congestivos.
TA1	Hígado Color: Rojo pardo Peso: 13.7 g Largo: 5.5 cm Ancho:4,1 cm Profundidad:0.4cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal, espacios porta con vasos congestivos.
TA2	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2.4 g Largo: 2.5 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.6cm	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal, no se observa lesiones focales. Muscularis mucosa conservada.
TA2	Riñones Color: Rojo Vino Peso: 1.3 g Largo: 1.9 cm Ancho:1.1 cm Profundidad:0.5cm	Glomérulos de circulación adecuada con integridad de la capsula, túbulo de calibre normal, vasos congestivos.

TA2	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 12.8 g Largo: 5.0 cm Ancho:4,6 cm Profundidad:0.7cm	Lobulillos, hepatocitos de arquitectura normal, espacios porta con vasos congestivo ligero.
TA3	Estómago Color: Mucosa color rosa Peso: 2.9 g Largo: 2.9 cm Ancho:0.8 cm Profundidad:0.6cm	Mucosa gástrica íntegra, no se observa lesiones focales ni erosivas. Muscularis mucosa conservada.
TA3	Riñones Color: Rojo pardo Peso: 1.4 g Largo: 2.2 cm Ancho:1.2 cm Profundidad:0.5cm	Glomérulos con integridad de la capsula, túbulo de calibre normal, vasos congestivos.
TA3	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 13.1 g Largo: 5.9 cm Ancho:4,6 cm Profundidad:0.6cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal, hepatocitos conservados, espacios porta con vasos congestivos.
TA4	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2.3 g Largo: 2.5 cm Ancho:0.9 cm Profundidad:0.5cm	Mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal,, no se observa lesiones focales ni erosivas. Muscularis mucosa conservada.

TA4	Riñones Color: Rojo Vino Peso: 1.3 g Largo: 2.0 cm Ancho:1.2 cm Profundidad:0.7cm	Glomérulos de circulación adecuada con integridad de la capsula, túbulos de calibre normal. Marcada congestión vascular
TA4	Hígado Color: Rojo pardo Peso: 10.9 g Largo: 5.6 cm Ancho:3.9 cm Profundidad:0.6cm	Lobulillos, hepatocitos de arquitectura normal, espacios porta con marcada congestión vascular

En el cuadro No. 10 nos indica el análisis microscópico y macroscópico que se realizó a los animales de experimentación para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de Santa María (*Piper peltatum*).

Dentro del análisis macroscópico se observó el peso, color, ancho, largo y profundidad de los distintos órganos, los cuales se encuentran dentro de los rangos normales.

El examen microscópico del estómago presentó una mucosa gástrica de consistencia y aspecto normal, no se observa lesiones focales ni erosivas, muscularis mucosa conservada.

El hígado presenta lobulillos, hepatocitos de arquitectura normal, presenta espacios porta con marcada congestión vascular. El riñón presenta glomérulos de circulación adecuada con integridad de la cápsula, túbulos de calibre normal. Marcada congestión vascular

Esto nos indica que durante el análisis microscópico y macroscópico de los órganos estómago, hígado y riñones no se observó afectación en ninguno de ellos, presentan una estructura histológica normal, por lo tanto el extracto de Santa María (*Piper peltatum*) en dosis de 3mg/kg no es tóxico.

CAPÍTULO IV

3. CONCLUSIONES

1. Al término de la investigación se evaluó el control de calidad de la droga cruda y del extracto administrar, los cuales se encontraron dentro de las especificaciones de la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos.
2. Mediante el análisis del tamizaje fitoquímico se determinó los compuestos químicos como: alcaloides, flavonoides, quinonas, triterpenos, cumarinas, taninos, fenoles, resinas, azúcares reductores que están presentes en la droga cruda Santa María (*Piper peltatum*)
3. Al culminar el pre ensayo se concluyó que el extracto etanólico tiene una actividad antiinflamatoria mayor, por tal motivo se realizó el ensayo a diferentes dosis.
4. Se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto de Santa María (*Piper peltatum*) a dosis de 1mg/kg, 2mg/kg, 3mg/kg de peso, mediante el edema plantar en ratas inducido por carragenina al 0.05%. Al realizar la comparación de medias mediante el análisis de varianzas se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y el grupo control.

5. Al término de la investigación los extractos fueron comparados con un grupo control positivo al que se administró 7mg/kg de peso, el análisis se hizo en relación al grupo control positivo, es decir el extracto que presenta una actividad antiinflamatoria semejante es el extracto etanólico a una dosis de 3mg/kg, ya que su porcentaje de inhibición es mayor

6. Se comprobó que el extracto etanólico Santa María (*Piper peltatum*) con la dosis de 3mg/kg no presenta un efecto tóxico en animales de experimentación, apoyando esta teoría con el análisis macroscópico y microscópico los cuales indican que no hay daño tisular en los órganos expuesto al efecto de este extracto, por lo que se establece que esta dosis es segura para su utilización,

CAPÍTULO V

4. RECOMENDACIONES

1. Deben realizarse más estudios sobre Santa María (*Piper peltatum*), ya que también se atribuye propiedades diuréticas, laxantes y digestivas, que su investigación sería de gran aporte.
2. Se recomienda que se realice más investigaciones con el fin de que se elabore un fitofármaco a base de Santa María (*Piper peltatum*), que sea factible su aplicación en procesos inflamatorios.
3. Debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que posee la planta se recomienda realizar un aislamiento y elucidación de los compuestos.
4. Establecer la dosis antiinflamatoria necesaria para producir el efecto antiinflamatorio de Santa María (*Piper peltatum*) en humanos.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Evaluar la actividad antiinflamatoria de extractos Santa María (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*), según Winter se realizó en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Mediante el método de investigación Analítico-Experimental, evaluar si el extracto de Santa María presenta actividad antiinflamatoria aplicando dosis de extractos a diferente polaridad con la finalidad de encontrar la más adecuada.

Se utilizó 28 ratas dividido en 8 grupos: GAP (Grupo Aleatorio Positivo naproxeno sódico), GAN (Grupo Aleatorio Negativo carragenina 1%), grupos tratados fueron: GAE1 (Grupo experimental 1 extracto etéreo 2mg/Kg), GAE2 (Grupo experimental 2 extracto etanólico 2mg/Kg), GAE3 (Grupo experimental 3 extracto acuoso 2mg/kg), GAE4 (Grupo experimental 4 extracto etanólico 1mg/Kg), GAE5 (Grupo experimental 5 extracto etanólico 3mg/kg), administrados por vía oral, como vehículo Tween 80 al 1% y agua destilada. Se midió los volúmenes de inflamación desde las 0 hasta 6 horas, para el análisis de los datos se utilizó test ANOVA (análisis de varianzas), y Tucker HSD 95% de confianza. Se comprobó la actividad antiinflamatoria resultando la dosis más efectiva 3mg/kg. El estudio toxicológico e histopatológico de dosis administradas, resultaron ser atóxicas, y seguras sobre los órganos farmacocinéticos involucrados (Estomago, Hígado, Riñón).

Se concluye que este extracto de Santa María mostro una efectividad antiinflamatoria, siendo los metabolitos secundarios flavonoides que intervienen en dicha capacidad farmacológica. Recomiendo que a partir de esta investigación se elabore un fitofármaco que sea factible su aplicación.

SUMMARY

Evaluate the anti-inflammatory activity of Santa Maria extracts (*Piper peltatum*) by the test of edema induced in rats (*Rattus norvegicus*); according to Winter it was carried out at the Vivarium of Biochemistry and pharmacy school from Escuela Superior Polytechnic de Chimborazo.

By the analytical experimental method of investigation, evaluate if Santa Maria extract presents anti-inflammatory activity using doses of extracts to different polarity with the purpose of finding the most appropriate.

28 Rats were divided into 8 groups: PRG (Positive Random Group) naproxen sodium, NGR (Negative Random Group) carrageenan 1%, groups treated were: ERG1 (Experimental Random group 1) ether extract 2mg/Kg, ERG2 (Experimental Random group 2) Etanólico extract 2mg/kg, ERG3 (Experimental Random group 3), Aqueous extract 2mg/kg, ERG4 (Experimental random group 4) Etanólico extract 1mg/kg, ERG5 (Experimental Random group 5) Etanólico extract 3mg/kg, administered orally, as tween vehicle 80 to 1% and distilled water.

The volumes of swelling were measured from 0 up to 6 hours; for the data analysis were used ANOVA test (analysis of variance) and Tucked HSD 95% of confidence. The anti-inflammatory activity was verified resulting the dose 3mg/kg the most effective. The toxicological and histopathological study of doses administered, proved to be nontoxic and safe on pharmacokinetic involved organs (stomach, liver, kidney).

It is concluded that the extract of Santa Maria showed an anti-inflammatory effectiveness, being the secondary metabolites flavonoids that are involved in the pharmacological capacity. It's recommended that from this research, a plant-based medication be developed that have a feasible application.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **AHUMADA, I, Y OTROS.,** Farmacología Practica., 1a. Ed., Madrid - España., Editorial Diaz de Santos., 2002., P.p. 134 – 139.
2. **ALFONSO, R.,** Remington Farmacia., 20a. Ed., Madrid - España., Editorial Medica Panamericana., 2000., P.p. 1736.
3. **ALGARRA, J.,** Tratamiento de las vias respiratorias., 7a. ed., Barcelona - España., Editorial Elsevier., 2005., P.p. 29 – 49.
4. **BULLON, A.,** Historia de la Inflamación., 1a. ed., Madrid – España., Editorial Garsi., 1983., P.p. 6 – 8.
5. **CASTRO, D.,** Manual de Patología General., 6a. Ed., Barcelona - España., Editorial Elsevier., 2006., P.p. 80.

6. **DAVID, M., Y OTROS.,** Immunology., 1a. Ed., Barcelona - España., Editorial Elsevier Health Sciences., 2006., P.p. 21 – 29.

7. **FERNANDEZ, P.,** Farmacología Básica y Clínica., 18a. Ed., Madrid - España., Editorial Medica Panamericana., 2008., P.p. 513 – 517.

8. **HORTON, D.,** Lo Esencial en Farmacología., 4a. Ed., Barcelona - España., Editorial Elsevier Health Sciences., 2013., P.p. 151– 153.

9. **KUMAR, V., Y OTROS.,** Patología Humana., 7a. ed., Madrid - España., Editorial Elsevier., 2008., P.p. 29 – 49.

10. **MARTIN, A.,** Patología Quirúrgica., 1a. Ed., Madrid - España., Editorial Elsevier., 2005., P.p. 140 – 143.

11. **MENDOZA, N.,** Farmacología Medica., 1a. Ed., Colombia., Editorial Medica Panamericana., 2008., P.p. 290 – 297.

12. **ROBBINS, C., Y OTROS.,** Patologia estructural funcional., 8ª. Ed., Barcelona - España., Editorial Elsevier., 2010., P.p. 29 – 49.

13. **ROJAS, W.**, Inmunología., 13a. Ed., Medellin - Colombia., Editorial Corporacion para Investigaciones Biologicas CIB., 2004., P.p. 79 – 90.

14. **STEVENS, A.**, Anatomía Patológica., 2a. Ed., Madrid - España., Editorial Harcourt., 2001., P.p. 51 – 57.

15. **TOMLINSON, S., Y OTROS.**, Mechanisms of Disease: an introduction to clinical science., 2a. Ed., España., Editorial Cambridge., 2008., P.p. 140.

16. **CACERES, A.**, Guatemala., Fondo para el Desarrollo Científico y Tecnológico., Caracterización de la Actividad Antioxidante de Extractos de Especies Nativas del Género *Piper* y Cuantificación de Metabolitos Secundarios con Potencial de desarrollo., Proyecto FODECYT., San José - Guatemala., 2011., P.p. 94 – 99.

17. **GARCIA, F.**, Revista Electrónica de Veterinaria., Animales de Experimentación., Zacateca - México., No. 1., Vol. 12., 2010., Pp. 5 – 7.

18. **GARCÍA, P.**, Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales., Inflamación., México – D. F. México., No. 1., Vol. 102., 2008., Pp. 90.

19. **HECTOR, H.**, Revista Medicina Universidad Navarra., Efecto de la Carragenina e Indometacina sobre el crecimiento., Buenos Aires - Argentina., No. 1., Vol. 60., 2000., Pp. 226.

20. **KASSIAN, A.**, Revista Científica Médica Farmacología., Naproxeno sódico., México – D.F. México., No. 1., Vol. 1., 2001., Pp. 10-15.

21. **MEJÍA, P., Y OTROS.**, Revista Cubana de Plantas Medicinales., Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum L.*, Habana - Cuba., No. 1., Vol. 2., 2009., Pp. 14.

22. **ORDOÑEZ, A.**, Revista Mexicana de Anestesiología., Naproxeno Sódico., México – D.F. México., No. 1., Vol. 29., 2006., Pp. 36 - 40.

23. **AGUAY, M.**, Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de la Mezcla de Extractos Fluidos de Jengibre (*Zingiberofficinale*), Tomillo (*Thymusvulgaris L.*), Romero., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., TESIS., 2012., P.p. 32-39.

- 24. ALVAREZ, L.,** Establecimiento de los patrones de identidad farmacobotánica de siete especies del genero Piper (piperaceae) del banco de germoplasma de la ecoparcela el kakawatal, samaayac, suchitepequez., Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., Escuela de Biología., Universidad de San Carlos de Guatemala., San José - Guatemala., TESIS., 2012., Pp. 27- 32. E.Books.cunori.edu.gt/download/Caracterizacin_Jocote_Otto_Alvarez.pdf
- 25. ARAGADVAY, S.,** Elaboración y Control de Calidad de Tintura y Gel Cicatrizante y Antiinflamatorio a Base de Chilca (*Baccharis latifolia*) y Hierba mora (*Solanumnigrum*)., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., TESIS., 2009., P.p. 84 -94.
- 26. CLEAVES, C.,** Etnobotánica Médica Participativa en siete comunidades de la zona de Influencia del Parque Nacional Laguna Lachúa Cobán, Alta Verapaz., Guatemala., Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., Escuela de Biología., Universidad de San Carlos de Guatemala., San José – Guatemala., TESIS., 2001., Pp., 184 - 188.

27. GÓMEZ, A., Caracterización de extractos y aceites esenciales y evaluación de la Actividad Biológica de Hoja de tres Especies de Piperaceas (*P. jacquemontianum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., Escuela de Química Farmacéutica., Universidad de San Carlos de Guatemala., San José - Guatemala., TESIS., 2008., Pp. 35.

E- Books. www.digi.edu.gt/bvirtual/informes/puirna/INF-2006-022.pdf

28. GUILLEN, P., Y OTROS., Validación de las metodías aplicadas al proceso de Selección, lavado, secado y el almacenamiento para plantas medicinales a través de aplicación de técnicas oficiales basadas en la farmacopea de la organización mundial de la salud., Facultad de Ciencias Químicas., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Universidad de Cuenca., Cuenca - Ecuador., TESIS., 2011., Pp. 14 – 18.

E-Books.<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/19/247.pdf>

29. RIVERA, D., Caracterización de Aceites Esenciales por Cromatografía de Gases de Tres especies del Género *piper* y Evaluación de la Actividad Citotóxica., Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., Escuela de Química Farmacéutica., Universidad de San Carlos de Guatemala., San José - Guatemala., TESIS., 2008., Pp. 6 - 18

E- Books. <http://es.scribd.com/doc/139603180/06-2677>

30. SANTAMARÍA, L., Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria del Extractos de Verdolaga (*Portulacaoleracea*) en Ratas (*Rattus norvegicus*) con Edema Inducido por Carragenina en el Bioterio. Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., TESIS., 2012., Pp. 50 – 60.

31. VICET, L., Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora, L.,* Facultad Ciencias Médicas., Escuela de Ciencias de la Salud Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas., Habana - Cuba., TESIS., 2009., Pp. 49 -58.
E- Books. http://tesis.repo.sld.cu/90/1/_liliana_Vicet.pdf

32. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichas/exoticas/Rattusnorvegicus00.pdf>
2013-11-29

33. ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDALES

<http://www.fibromialgiamexico.com/categoria.php?ClavC>
2013-08-11

34. BOTÁNICA DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)

<http://agrobiotecnologiasenatumaco.blogspot.com/p/herbario.html>
2013-08-29

35. CARACTERISTICAS DE LAS PIPERACEAE

<http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/view/species/4159>

2013-08-12

36. CARRAGENINA

<http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/928/1/27T033.pdf>

2013-08-20

37. CININAS PRESENTES EN LA INFLAMACIÓN

<http://nonsomedicos.files.wordpress.com/2010/09/cininas>

2013-11-24

**38. CONCEPTOS BÁSICOS DE PATOLOGÍA:
INFLAMACIÓN.**

<http://www.mvzunipaz.edu.co/documentos/bloques/patologia/charlas/inflamacion.pdf>

2013-09-12

39. DEFINICIÓN DE INFLAMACIÓN CRÓNICA

<http://www.veoapuntes.com/MEDICINA/3/ANATOMIA%20PATOLOGICA/7.%20INFLAMACION%20CRONICA.pdf>

2013-11-16

40. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA (*Piper peltatum*)

[http://es.scribd.com/doc/55844311/Album-Digital-](http://es.scribd.com/doc/55844311/Album-Digital-Familias-Botonicas)

[Familias-Botonicas](#)

2013-09-25

41. DOSIS LETAL 50

http://www.animanaturalis.org/p/1361/dosis_letal_50_DL50

2013-12-11

42. ESTUDIO FITOQUIMICO.

[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v14_n2/pdf/](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v14_n2/pdf/a06v14n2.pdf)

[a06v14n2.pdf](#)

2013-12-05

43. ETNOFARMACOLOGÍA

www.elmundo.es/salud/1995/166/00936.html

2013-08-29

44. ETHNOPHARMACOLOGY AND FUTURE OF DRUG DEVELOPMENT

[http://files.sld.cu/mednat/files/2012/01/fitofarmacos-](http://files.sld.cu/mednat/files/2012/01/fitofarmacos-intervencion-educativa.pdf)

[intervencion-educativa.pdf](#)

2013-08-29

45. FORMAS DE INFLAMACIÓN

http://escuela.med.puc.cl/publ/patologiageneral/Patol_061.html

2013-11-28

46. INFLAMACIÓN

http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_25.pdf

2013-09-11

47. INFLAMACIÓN AGUDA

<http://campus.usal.es/~dermed/Tema%28.Inflamacion.pdf>

2013-09-11

48. INFLACIÓN CRÓNICA Y AGUDA

<http://www.uco.es/grupos/inmunologiamolecular/inmunologia/tema25/etexto25.htm>

2013-11-21

49. INFLAMACIÓN GRANULOMATOSA

<http://www.patologiafcm.com.ar/wpcontent/uploads/downloads/2012/05/Inflamacion-granulomatosa.pdf>

2013-11-16

50. INFLAMACIÓN CRÓNICA GRANULOMATOSA

<http://www.med.ufro.cl/Recursos/Patologia/CursoPatologiaGeneral/Patologia2001/Cd/cd12j.htm>

2013-11-22

51. MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN

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

2013-11-25

52. MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

<http://www.gonzalezdearriba.com/2012/02/fases-de-la-inflamacion.html>

2013-11-23

53. MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

http://www.tuotromedico.com/temas/medicamentos_antiinflamatorios.ht

2013-08-11

54. MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS

<http://antiinflamatorios.net/>

2013-09-13

55. MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS (AINES)

<http://www.dolor-pain.com/aines.html>

2013-09-13

**56. METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES DEL
GENERO *PIPER***

http://www.hear.org/pier/commonnames/details/piper_peltatum.htm

2013-09-13

**57. NORMAS Y ESPECIFICACIONES DEL CONTROL DE
CALIDAD.**

<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S08640300200200030012&script=sciarttext&tlng=pt>

2013-12-02

58. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN.

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lpro/lopez_a_e/capitulo1.pdf

2013-12-05

59. PLANTAS MEDICINALES CURATIVAS

http://www.jorgevaleranatura.com/plantas_medicinales_curativas/s/usos_propiedades.php?naturales=santa-maria

2013-11-09

60. PLANTAS MEDICINALES.

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/barra_nco_1_sl/capitulo1.pdf

2013-12-05

61. PROCESO INFLAMATORIO

http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/inmunoclinica/documentos/Clase_1-09-09_Inflamacion.pdf

2013-11-24

62. PROMOCIÓN ÉTICA DE MEDICAMENTOS EN EL ECUADOR

<http://www.consumidoresandinos.com/documentos/campañas/3/estudios/medicamentosecuador.pdf>

2013-10-01

63. PROPIEDADES DE LA CARRAGENINA

<http://vri.cz/docs/vetmed/58-4-187.pdf>

2013-11-29

64. RESULTADOS DE LA INFLAMACIÓN AGUDA

<http://www.cirugest.com/htm/revisiones/cir02-02/02-02-01.htm>

2013-11-28

65. SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)

http://www.hear.org/pier/commonnames/details/piper_peltatum.htm

2013-12-02

66. SOLVENTES PARA LA EXTARCCIÓN

<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33632/1/Celio-2011>

2013-12-02

67. TAXONOMÍA DE *Piper peltatum*

<http://herbario.medellin.unal.edu.co/MEDEL/?controlador=ShowObject&accion=show&id=8350>

2013-08-12

68. TIPOS DE INFLAMACIÓN

<http://patologiasfesc.webcindario.com/archivos/Capituloinfam3a%5B1%5D.pdf>

2013-11-30

69. TOXICIDAD AGUDA

<http://www.unc.edu/courses/2006spring/envr/132/001/Botnam2004.pdf>

20131211

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No. 1 MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA No. 1 HOJAS SECAS Y TRITURADAS (*Piper peltatum*)

ANEXO No. 2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO CON DISTINTOS SOLVENTES



FOTOGRAFÍA No. 2 MACERACIÓN DE HOJAS SECAS (*Piper peltatum*)



FOTOGRAFÍA No. 3 EVAPORACIÓN DEL SOLVENTE ETÉREO



FOTOGRAFÍA No. 4 EVAPORACIÓN DEL SOLVENTE ETANÓLICO



FOTOGRAFÍA No. 5 CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO (*Piper peltatum*)

ANEXO No. 3 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA HOJAS SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)



FOTOGRAFÍA No. 6 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD



FOTOGRAFÍA No. 7 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES



FOTOGRAFÍA No. 8 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN H₂O



FOTOGRAFÍA No. 9 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCl

**ANEXO No. 4 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO HOJAS DE SANTA MARIA
(*Piper peltatum*)**



FOTOGRAFÍA No. 10 REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS



FOTOGRAFÍA No. 11 SOLIDOS TOTALES



FOTOGRAFÍA No. 12 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

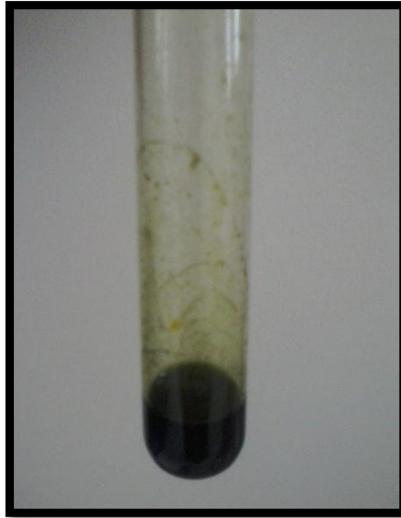


FOTOGRAFÍA No. 13 pH



FOTOGRAFÍA No. 14 DENSIDAD RELATIVA

ANEXO No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO HOJAS DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*)



FOTOGRAFÍA No. 15 ENSAYO DE DRAGENDORFF



FOTOGRAFÍA No. 16 ENSAYO DE WAGNER



FOTOGRAFÍA No. 17 ENSAYO DE MAYER



FOTOGRAFÍA No. 18 ENSAYO DE SHINODA



FOTOGRAFÍA No. 19 ENSAYO DE LIEBERMAN BUCHARD



FOTOGRAFÍA No. 20 ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO



FOTOGRAFÍA No. 21 ENSAYO DE FEHLING



FOTOGRAFÍA No. 22 ENSAYO DE SUDAN III



FOTOGRAFÍA No. 23 ENSAYO DE BORNTRAGER



FOTOGRAFÍA N° 24 ENSAYO DE BALJET



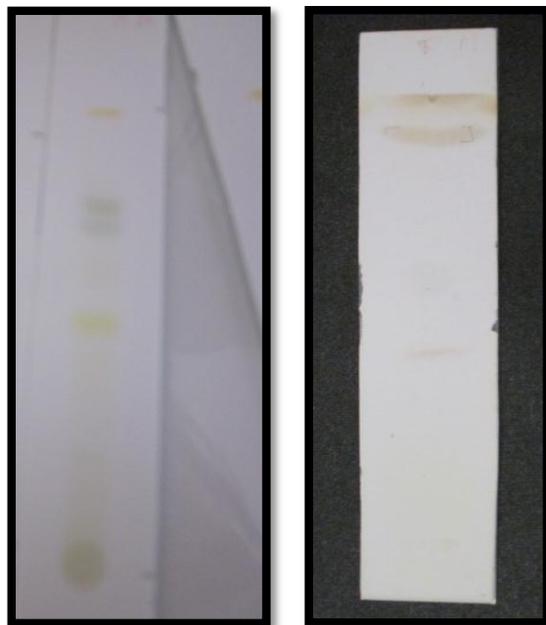
FOTOGRAFÍA No. 25 ENSAYO DE RESINAS

ANEXO No. 6 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA FLAVONOIDES TOTALES



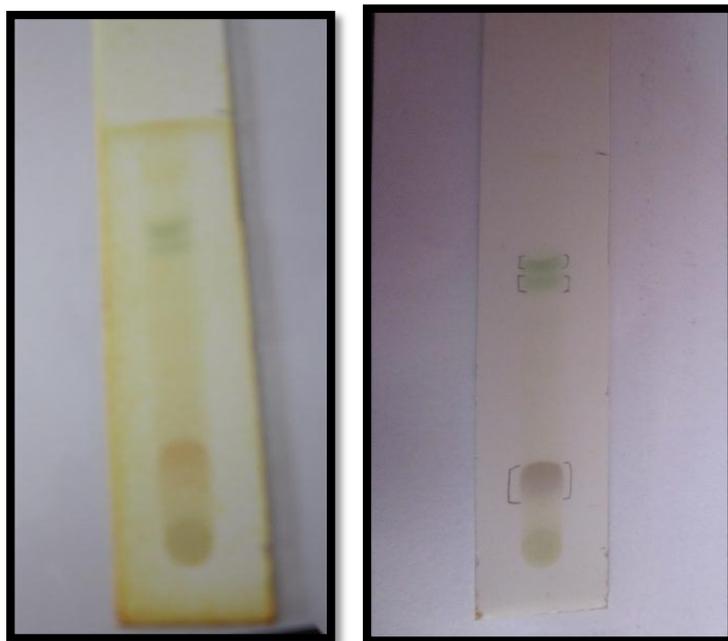
FOTOGRAFÍA No. 26 LECTURA DEL ESTÁNDAR RUTINA

ANEXO No. 7 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA No. 27 CROMATOGRAFÍA CAPA FINA PARA FLAVONOIDES

ANEXO No. 8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA ALCALOIDES



FOTOGRAFÍA No. 28 CROMATOGRAFÍA CAPA FINA PARA ALCALOIDES

ANEXO No. 9 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE SANTA MARÍA (*Piper peltatum*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013



FOTOGRAFÍA No. 29 GRUPOS ALEATORIOS EXPERIMENTALES RATAS



FOTOGRAFÍA No. 30 TOMA DE PESOS DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



FOTOGRAFÍA No. 31 MATERIALES UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 32 EXTRACTOS ADMINISTRADOS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES



FOTOGRAFÍA No. 33 ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTOS POR VÍA ORAL



FOTOGRAFÍA No. 34 PATAS NORMALES DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 35 INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR EN RATAS



FOTOGRAFÍA No. 36 FORMACIÓN DEL EDEMA PLANTAR EN RATAS

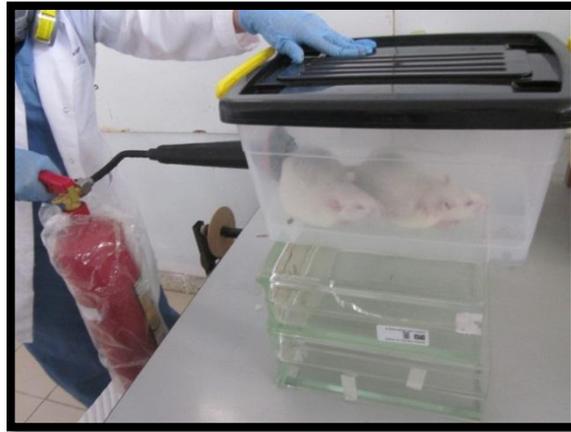


FOTOGRAFÍA No. 37 DISMINUCIÓN DEL EDEMA CON EL EXTRACTO ETANÓLICO 3mg/kg



FOTOGRAFÍA No. 38 MEDICIÓN DEL VOLUMEN DE LA PATA TRASERA DERECHA DE LA RATA

ANEXO No 10 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO SANTA MARÍA (*Piper peltatum*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013

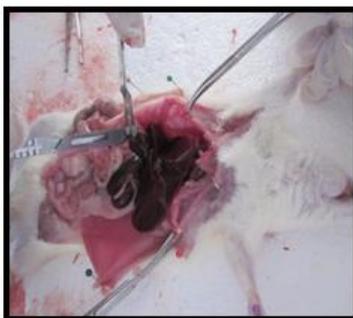


FOTOGRAFÍA No. 39 EUTANASIA CON CO2



FOTOGRAFÍA No. 40 DISECCIÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)

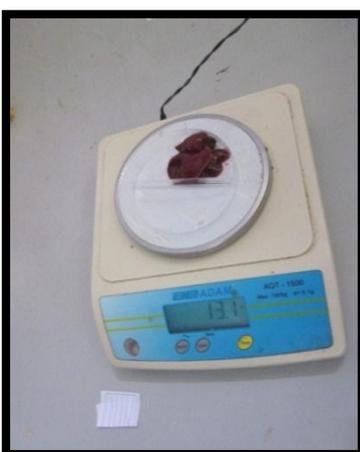
ANEXO No. 11 ANÁLISIS MACROSCÓPICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013



FOTOGRAFÍA No. 41 EXTRACCION DE LOS ORGANOS A INVESTIGAR



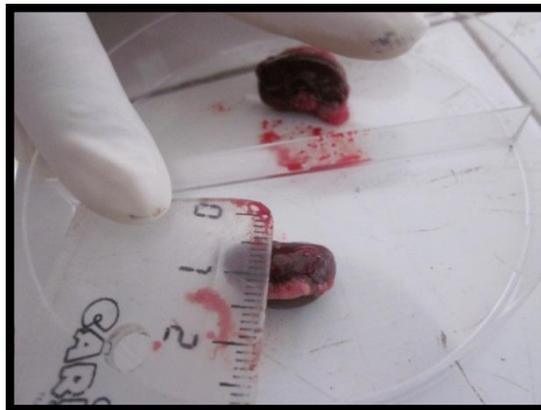
FOTOGRAFÍA No. 42 PESO DEL ESTÓMAGO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA N° 43 PESO DEL HÍGADO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 44 PESO DEL RIÑÓN DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 45 MEDICIÓN DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)

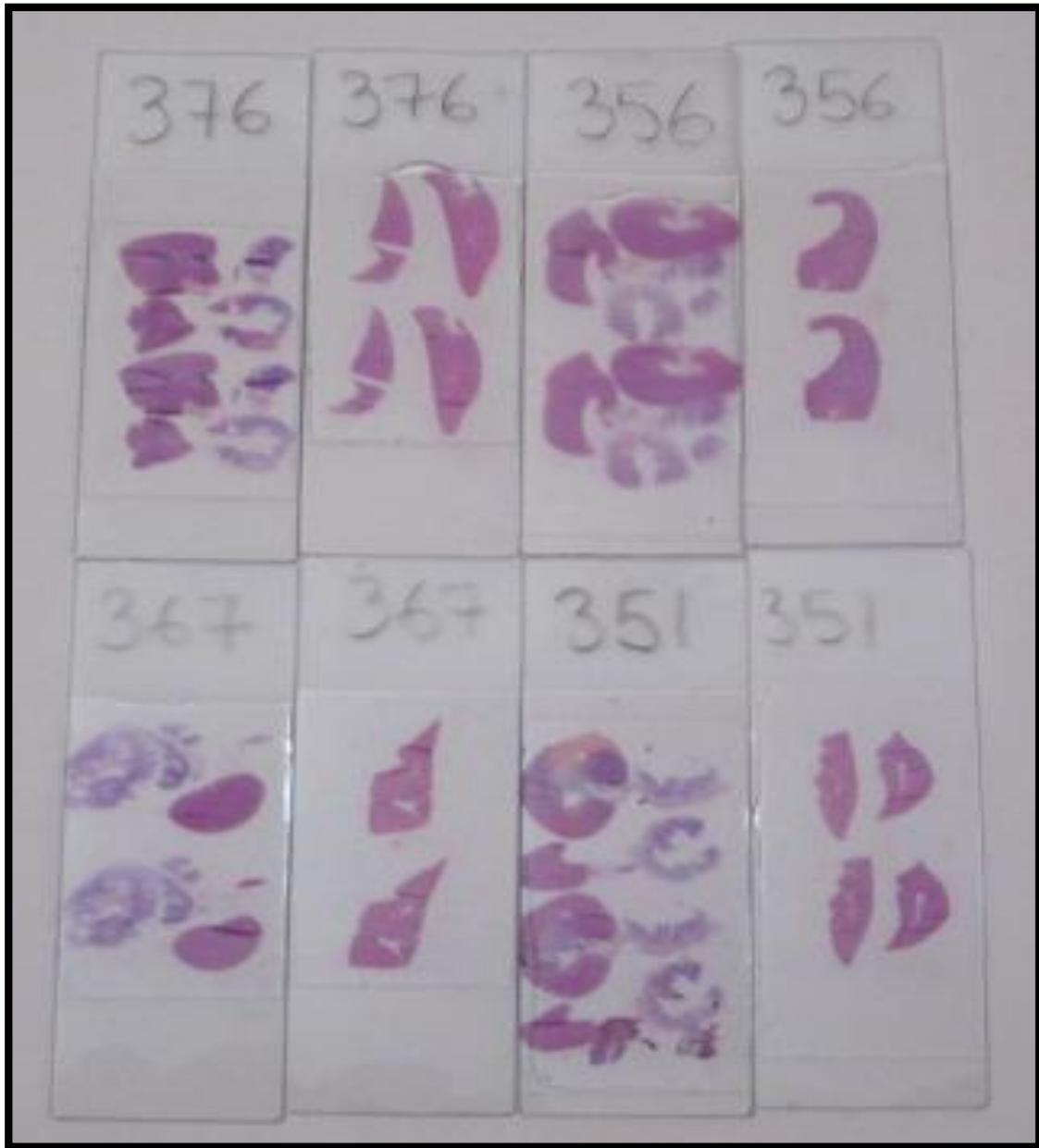


FOTOGRAFÍA No. 46 ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*) EN FORMOL 10%

ANEXO No. 12 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN RATAS (*Rattus norvegicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO Dr. OSWALDO DUQUE ANDRADE. NOVIEMBRE 2013



FOTOGRAFÍA No. 47 FIJACIÓN DE PLACAS DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 48 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)

ANEXO No. 13 RESULTADOS DEL VOLUMEN PROMEDIO DE LAS TRES REPLICAS DE EXTRACTOS SANTA MARÍA (*Piper peltatum*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE 2013.

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 1 HORAS					
GRUPOS	R₁ Volumen (cm³)	R₂ Volumen (cm³)	R₃ Volumen (cm³)	\bar{x} Volumen (cm³)	Desviación Estándar
GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	3,59	3,47	3,68	3,58	0,11
GAN	3,5	3,21	3,77	3,49	0,28
GAE1	3,55	3,42	3,42	3,46	0,08
GAE2	3,21	3,4	3,86	3,49	0,33
GAE3	3,55	3,59	4,23	3,79	0,38
GAE4	3,29	3,86	4,96	4,04	0,85
GAE5	3,47	3,42	3,47	3,45	0,03
TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 2 HORAS					
GRUPOS	R₁ Volumen (cm³)	R₂ Volumen (cm³)	R₃ Volumen (cm³)	\bar{x} Volumen (cm³)	Desviación Estándar
GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	2,61	3,26	3,26	3,04	0,38
GAN	4,94	4,83	4,96	4,91	0,07
GAE1	4,84	4,92	4,94	4,90	0,05
GAE2	3,42	3,61	5,35	4,13	1,06
GAE3	5,48	5,22	4,71	5,14	0,39
GAE4	5,08	4,09	4,47	4,09	0,27
GAE5	3,89	3,64	3,68	3,74	0,13

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 3 HORAS

GRUPOS	R₁ Volumen (cm³)	R₂ Volumen (cm³)	R₃ Volumen (cm³)	\bar{x} Volumen (cm³)	Desviación Estándar
GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	2,79	3,06	3,06	2,97	0,16
GAN	5,19	5,08	6,03	5,43	0,52
GAE1	5,76	4,33	4,83	5,76	0,66
GAE2	3,64	3,82	5,62	4,36	1,09
GAE3	5,48	5,47	4,71	5,22	0,44
GAE4	5,08	4,33	4,47	5,08	0,43
GAE5	3,89	3,86	4,36	4,04	0,28

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 4 HORAS

GRUPOS	R₁ Volumen (cm³)	R₂ Volumen (cm³)	R₃ Volumen (cm³)	\bar{x} Volumen (cm³)	Desviación Estándar
GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	2,79	3,06	3,06	2,97	0,16
GAN	5,47	4,33	6,32	5,37	1,00
GAE1	4,96	4,58	5,08	4,87	0,26
GAE2	3,64	4,48	5,08	4,40	0,72
GAE3	5,48	4,97	4,71	5,05	0,39
GAE4	5,08	4,33	4,47	4,71	0,53
GAE5	3,68	3,64	4,36	3,89	0,40

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 5 HORAS

GRUPOS	R₁ Volumen (cm³)	R₂ Volumen (cm³)	R₃ Volumen (cm³)	\bar{x} Volumen (cm³)	Desviación Estándar
---------------	---	---	---	--	--------------------------------------

GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	2,79	3,06	3,06	2,97	0,16
GAN	5,75	4,09	6,03	5,29	1,05
GAE1	4,47	4,58	5,35	4,80	0,48
GAE2	3,86	4,48	5,08	4,47	0,61
GAE3	5,22	4,72	4,71	4,88	0,29
GAE4	4,84	4,33	4,47	4,55	0,26
GAE5	3,68	3,64	4,36	3,89	0,40

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 6 HORAS

GRUPOS	R₁ Volumen (cm ³)	R₂ Volumen (cm ³)	R₃ Volumen (cm ³)	\bar{x} Volumen (cm ³)	Desviación Estándar
GAB	2,11	2,44	2,63	2,39	0,26
GAP	2,79	3,06	3,06	2,97	0,16
GAN	5,75	4,09	6,03	5,29	1,05
GAE1	5,48	5,08	5,89	5,48	0,41
GAE2	4,09	4,71	5,35	4,72	0,63
GAE3	5,48	4,97	4,96	5,23	0,36
GAE4	4,84	4,33	4,47	4,55	0,26
GAE5	3,68	3,64	4,36	3,89	0,40

ANEXO No. 14 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DISCONTINUA

Extracciones discontinuas	Temperatura	Tiempo	Solvente
Maceración	T ambiente	Horas – días	Agua, mezcla hidroalcohólicas, glicerina
Digestión	T > ambiente	Horas – días	Agua, mezcla hidroalcohólicas, glicerina
Infusión	T próxima a ebullición T menos	1 – 2 minutos Hasta 30 minutos	Agua
Decocción	T de ebullición	15 -30 minutos	Agua

ANEXO No. 15 SOLVENTES UTILIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN

Agua	Etanol	Metanol	Cloroformo	Éter	Acetona
Antocianinas	Taninos	Antocianinas	Terpenoides	Alcaloides	Fenol
Almidones	Polifenoles	Terpenoides	Flavonoides	Terpenoides	Flavonoles
Taninos	Poliacetilenos	Saponinas		Cumarinas	
Saponinas	Flavonoides	Taninos		Acido grasos	
Terpenoides	Terpenoides	Lactonas			
Polipectidos	Esteroles	Flavonas			
Lecitinas	Alcaloides	Fenonas			
		Polifenoles			

ANEXO No. 16 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES USANDO COMO PATRÓN LA RUTINA EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 510 nm
20	0,222
40	0,435
60	0,647
80	0,86
100	1,073

