



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS
DE LAS HOJAS DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*) EN RATAS (*Rattus
norvegicus*) CON EDEMAS INDUCIDAS POR CARRAGENINA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

MIRIAM VANESA CHIMBO REA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis amados padres fuente de inspiración y ejemplo a seguir, Arturo mi padre el mejor ser humano que conozco y Cecilia mi madre que aunque no pudo estar junto a mí siempre estuvo en mi corazón dándome la fuerza necesaria para seguir adelante, a Magui que llegó a mi vida a llenar el gran vacío que dejó mi madre y se constituye en un pilar importante para el logro de mis metas. Un agradecimiento especial a mi Padre por ser la persona que nunca dejó de creer en mí y estar a mi lado aun en los momentos más difíciles, enseñándome a luchar por mis sueños cada minuto, además de brindarme su apoyo moral y económico indispensable para cumplir una meta más en mi vida. A mis hermanitos Washington, Juan Carlos, Saymir por compartir conmigo momentos de grandes alegrías y tristezas, a mi hermana Estefanía por formar parte de mi vida.

A mi familia en general, abuelitos, tíos, tías, primos, primas que siempre estuvieron pendientes de cada paso en mi vida alentándome siempre a seguir adelante hasta lograr mis metas.

A mis amigas y amigo, Fanny, Judy, Jenny, David que fueron mi familia durante mi vida estudiantil compartiendo conmigo muchas experiencias que quedarán plasmadas en mi mente y en mi corazón por siempre.

A las personas que estuvieron junto a mí en el desarrollo de esta tesis apoyándome en todo momento Mary, Gaby, Luis, Marisol, Diana, Diany, mi cariño eterno.

AGRADECIMIENTO

A la querida Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que conjuntamente con sus autoridades trabajan en beneficio de los estudiantes con el anhelo de formar profesionales dignos, dispuestos a servir a la ciudadanía preparándolos tanto en el aspecto intelectual como humanístico, apoyando siempre al desarrollo de investigaciones.

A la Dra. Elizabeth Escudero por su valiosa colaboración y asesoramiento en el desarrollo de la presente tesis, brindándome una mano amiga.

Al BQF. Germán Toapanta por su aporte muy importante en el desarrollo de la investigación

A mi padre Arturo por haber confiado en mí y darme la fuerza necesaria para culminar la carrera, a mi madre Cecilia que permaneció en mi mente y corazón siempre guiándome, a Magui una mujer llena de virtudes que me brindo desde mi infancia todo su cariño y apoyo, a mis hermanos Washington, Juan Carlos, Saymir, Estefanía por darme todo su cariño y palabras de aliento para culminar una etapa más de mi vida, a todas aquellas personas que me brindaron su amistad, cariño y confianza.

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 LAS HOJAS DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMAS INDUCIDAS POR CARRAGENINA**”, de responsabilidad de la señorita egresada Miriam Vanesa Chimbo Rea, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. César Avalos

DECANO FAC. CIENCIAS

Dra. Ana Albuja

DIRECTORA DE ESCUELA

Dra. Elizabeth Escudero

DIRECTORA DE TESIS

Bqf. Germán Toapanta

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

**COORDINADOR ENCARGADO
DE SISTEMA DE BIBLIOTECA**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, **Miriam Vanesa Chimbo Rea**, 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

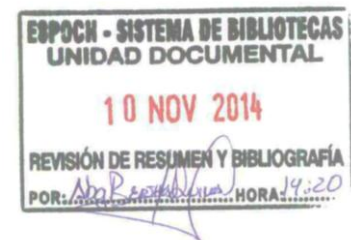
MIRIAM VANESA CHIMBO REA

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antiinflamatoria de extractos de las hojas de caña agria (*Costus spicatus*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con edemas inducidas por carragenina, realizada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con la finalidad de contribuir con nuevas alternativas al tratamiento de afecciones inflamatorias.

Para determinar la seguridad del uso del vegetal, se realizaron pruebas de control de calidad del vegetal y del extracto etanólico que se utilizó para evaluar la actividad antiinflamatoria de caña agria (*Costus spicatus*), para lo cual se utilizó 18 animales de experimentación (*Rattus norvegicus*) divididos de forma aleatoria en 6 grupos: GEP (Grupo experimental positivo: Naproxeno Sódico más carragenina al 1%), GEN (Grupo experimental negativo: carragenina 1%), GEB (Grupo experimental blanco: vehículo Tween 80 al 1% más agua destilada); los grupos tratados con los diferentes extractos fueron: GE1 (Grupo experimental 1: extracto etanólico 20%, más carragenina al 1%), GE2 (Grupo experimental 2: extracto etanólico 40%, más carragenina al 1%), GE3 (Grupo experimental 3: extracto etanólico 80%, más carragenina al 1%), la vía de administración utilizada fue oral, el vehículo utilizado Tween 80 al 1% y agua destilada. Se midieron los volúmenes de inflamación producidos por la carragenina en la aponeurosis plantar desde las 0 hasta las 6 horas, el análisis de los datos se realizó utilizando el test Anova y Tukey con intervalo de 95% de confianza. Se concluyó que el extracto del vegetal al 80% presenta una actividad antiinflamatoria similar al Naproxeno Sódico.

El estudio toxicológico realizado demostró que el vegetal no presenta ningún daño a nivel tisular de los principales órganos farmacocinéticos involucrados (Estómago, Hígado y Riñón). A partir de esta investigación se recomienda establecer una dosis específica para elaborar un fitofármaco que facilite su almacenamiento y administración.



SUMMARY

The present study aimed to evaluate the anti-inflammatory activity of extracts from the leaves of sour cane (*Costus spicatus*) in rats (*Rattus norvegicus*) with edema induced by carrageenan, it was carried out at the Vivarium of Sciences Faculty of Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, with the purpose to contribute with new alternatives to the treatment of inflammatory conditions.

To determine the safety use of the plant, quality control testing of the plant and the ethanol extract were conducted to evaluate the anti-inflammatory activity of sour cane (*Costus spicatus*) for which 18 experimental animals (*Rattus norvegicus*) were used the same that were divided in a random way into 6 groups: GEP (Positive experimental group: Naproxen Sodium plus carrageenan to 1%), GEN (Negative experimental group: carrageenan 1%), GEB (White experimental group: Vehicle Tween 80 to 1% plus distilled water); the groups treated with the different extracts were GE1 (Experimental group 1: ethanol extract 20% plus carrageenan to 1%), GE2 (Experimental group 2: ethanol extract 40% plus carrageenan to 1%), GE3 (Experimental group 3: ethanol extract 80% plus carrageenan to 1%). The route of administration used was oral, the vehicle used tween 80 to 1% and distilled water. Swelling volumes produced by the carrageenan on the plantar aponeurosis were measured from 0 to 6 hours, and data analysis was performed using ANOVA test and TUKEY with range of 95% of confidence. It was concluded that the plant extract to 80% presents an anti-inflammatory activity similar to Naproxen Sodium. The toxicological study showed that the plant is not damaged at the tissue level of the main pharmacokinetic organs involved (stomach, liver and kidney). From this research it is recommended to establish a specific dose to produce a phytomedicine that facilitates its storage and administration.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1	MARCO TEÓRICO.....	1 -
1.1	Inflamación	1 -
1.1.1	Introducción	1 -
1.1.2	Definición.....	1 -
1.1.3	Clínica.....	2 -
1.1.4	Fases de la inflamación:	4 -
1.1.5	Tipos de inflamación	6 -
1.1.6	Mediadores químicos de la inflamación	9 -
1.1.6.1	Mediadores derivados de células	10 -
1.1.6.2	Mediadores derivados de proteínas plasmáticas.....	14 -
1.2	Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).....	16 -
1.2.1	Introducción	16 -
1.2.2	Definición.....	17 -
1.2.3	Principales acciones farmacológicas de los aines	17 -
1.2.4	Cuadro nacional de medicamentos básicos.....	18 -
1.2.4.1	Estructura y nomenclatura.....	19 -
1.2.5	Naproxeno	21 -
1.2.5.1	Estructura	22 -

1.2.5.2	Mecanismo de acción.....	- 23 -
1.2.5.3	Farmacología clínica.....	- 24 -
1.2.5.4	Efectos adversos	- 24 -
1.3	Plantas con actividad antiinflamatoria.....	- 26 -
1.3.1	Caña agria.....	- 27 -
1.3.1.1	Hábitat y características botánicas.....	- 27 -
1.3.1.2	Etnobotánica y antropología.....	- 28 -
1.3.1.3	Forma de empleo	- 28 -
1.3.1.4	Usos medicinales	- 28 -
1.3.1.5	Posología y recetas.....	- 29 -
1.3.1.6	Fitoquímica y farmacología.....	- 29 -
1.4	Modelos de evaluación <i>in vivo</i> de la actividad antiinflamatoria	- 32 -
1.4.1	Modelos de evaluación <i>in vivo</i>	- 32 -
1.4.1.1	Modelos de inflamación aguda.....	- 32 -
1.4.2	Carragenina	- 34 -
1.4.2.1	Estructura química	- 34 -
1.5	Animales de experimentación	- 36 -
1.5.1	Rata “ <i>rattus norvegicus</i> ”	- 36 -
1.5.1.1	Descripción física	- 37 -
1.5.1.2	Ambiente	- 38 -
1.5.1.3	Alimentación	- 39 -
1.5.1.4	Ciclo reproductivo y tamaño de camada	- 39 -
1.5.2	Manejo	- 39 -
1.5.3	Principios de los tratados de helsinki.....	- 40 -
1.5.4	Vías de administración.....	- 41 -
1.5.5	Diseño completamente al azar (DCA).....	- 42 -

CAPÍTULO II

2	PARTE EXPERIMENTAL.....	- 43 -
2.1	Lugar y factores de investigación.....	- 43 -
2.2	Materiales, equipos y reactivos	- 43 -

2.2.1	Materia prima	- 43 -
2.2.2	Reactivo biológico	- 44 -
2.2.3	Equipos.....	- 44 -
2.2.4	Materiales de laboratorio	- 45 -
2.2.5	Reactivos	- 46 -
2.3	Métodos y técnicas	- 47 -
2.3.1	Comprobación e identificación taxonómica.....	- 47 -
2.3.2	Recolección del material vegetal: muestreo.....	- 47 -
2.3.3	Limpieza y desinfección del material vegetal	- 47 -
2.3.4	Preparación de extractos	- 48 -
2.3.5	Parámetros de control de calidad.....	- 49 -
2.3.5.1	Parámetros de calidad del extracto etanólico	- 49 -
2.3.6	Estudio químico cualitativo (tamizaje fitoquímico)	- 51 -
2.3.7	Análisis cromatográfico del marcador químico flavonoides	- 53 -
2.3.8	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales (método del AlCl ₃) expresados como rutina.	- 54 -
2.3.9	Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de caña agria (<i>costus spicatus</i>).....	- 56 -
2.3.9.1	Protocolo farmacológico	- 56 -
2.3.10	Ensayo de toxicidad aguda.....	- 60 -
2.3.10.1	Diseño experimental	- 60 -
2.3.10.2	Exámen anatomopatológico e histopatológico	- 61 -
2.3.10.3	Análisis estadístico.....	- 62 -

CAPÍTULO III

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 63 -
3.1	Control físico-químico de la droga cruda	- 63 -
3.2	Control de calidad del extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>).....	- 64 -
3.2.1	Determinación de requisitos organolépticas del extracto etanólico	- 64 -
3.2.2	Determinación de parámetros físicos del extracto etanólico.....	- 64 -
3.3	Tamizaje fitoquímico.....	- 65 -

3.4	Analisis cromatografico.....	- 68 -
3.4.1	Análisis cromatografico de flavonoides.....	- 68 -
3.5	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales expresado como porcentaje de rutina	- 69 -
3.6	Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>) en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) con edema plantar inducido con carragenina	- 69 -
3.6.1	Análisis estadístico	- 71 -
3.7	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>).....	- 75 -
3.8	Exámen histopatológico en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	- 76 -
 CAPÍTULO IV		
4	CONCLUSIONES	- 80 -
 CAPÍTULO V		
5	RECOMENDACIONES.....	- 82 -
 CAPÍTULO VI		
6	BIBLIOGRAFÍA	- 83 -
 CAPÍTULO VII		
7	ANEXOS.....	- 93 -

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac.	Ácido
Cm	Centímetros
G	Gramos
Kg	Kilogramo
µg	Microgramo
mg	Miligramo
ml	Mililitro
mm	Milímetros
pH	Potencial de hidrógeno
Ppm	Partes por millón
Rf	Factor de retención
T	Temperatura
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta
%	Porcentaje
nm	Nanómetros
°C	Grados Celsius
µL	Microlitros
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
IFN-g	Interferón gamma
GM-CSF	Factor de estimulación de colonias de granulocitos-macrófagos
CE	Células epiteliales
H1, H2, H3	Receptores histamínicos
C3	Convertasa
C3a, C5a	Anafilotoxinas
FLA 2	Fosfolipasa A2
A. A.	Ácido araquidónico
FNkB	Factor de transcripción nuclear kappa B
PGE2	Prostaglandina E2
PGD2	Prostaglandina D2
LXA, LXB	Lipoxinas
FLAP	Proteína activadora de la lipoxigenasa
LTC4, LTD4, LTE4	Cisteinil-leucotrienos
LTB4	Leucotrieno B4
PAF	Factor activador de plaquetas
NO	Óxido nítrico

GMPC	Guanosin monofosfato cíclico
TNFα	Caquexina
IL-1β	Interleucina-1 beta
g/L	Gramos/ litros
D	Factor D
C3b, C4b	Opsoninas
OMS	Organización Mundial de la Salud
ATC	Anatomía, terapéutica y química
DDD	Dosis diaria definida
COX-1	Ciclooxigenasa 1
COX.2	Ciclooxigenasa 2
PG	Prostaglandinas
TX	Tromboxanos
TPA	13-acetato de 12-tetradecanoilforbol
PKC	Receptor de la proteína quinasa C

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados de control de calidad de la droga cruda caña agria (<i>Costus spicatus</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2014.....	63
CUADRO No. 2	Características organolépticas del extracto etanólico caña agria (<i>Costus spicatus</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Marzo 2014.....	64
CUADRO No. 3	Determinación de los parámetros físicos del extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2014.....	64
CUADRO No. 4	Resultados de calidad cualitativo (tamizaje fitoquímico) caña agria (<i>Costus spicatus</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Marzo 2014.....	66
CUADRO No. 5	Determinación de flavonoides según su Rf en cromatografía de capa fina del extracto caña agria (<i>Costus spicatus</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2014.....	68
CUADRO No. 6	Determinación de concentración de flavonoides totales expresados en mg de catequina/ g de muestra en el extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>). Laboratorio de química instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2014.....	69
CUADRO No. 7	Resultados del volumen de inflamación de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Bioterio de la facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2014.....	70
CUADRO No. 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. Mayo 2014.....	72
CUADRO No. 9	Análisis de los signos en los primeros 7 días. en ratas durante la investigación de la toxicidad aguda del extracto etanólico caña agria (<i>Costus spicatus</i>). Bioterio de la facultad de ciencias. Junio 2014.....	75
CUADRO No. 10	Protocolo histopatológico de biopsias de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) a las que se les administro extracto etanólico de caña agria (<i>Costus spicatus</i>) para el análisis de efecto tóxico. Bioterio de la facultad de ciencias. Espoch. Julio 2014.....	76
CUADRO No. 11	Curva de calibración de Catequina usado como patrón en la cuantificación de flavonoides totales. Laboratorio de Química Instrumental. Facultad de Ciencias. Espoch.....	99

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Componentes de los gránulos de los neutrófilos.....	8
TABLA No. 2	Mediadores químicos de la inflamación.....	9
TABLA No. 3	Enfermedades inflamatorias	16
TABLA No. 4	Clasificación de los AINEs según su selectividad COX-2/COX-1	18
TABLA No. 5	Clasificación ATC	20
TABLA No. 6	Sistema músculo-esquelético.....	21
TABLA No. 7	Efectos adversos más comunes de los AINEs	25
TABLA No. 8	Especificaciones de la carragenina.....	35
TABLA No. 9	Información taxonómica	38
TABLA No. 10	Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios.....	52
TABLA No. 11	Definición de los grupos por extracto	56
TABLA No. 12	Denominación de grupos para la investigación	57
TABLA No. 13	Evaluación farmacológica	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Resultado de volumen de inflamación de los diferentes grupos vs tiempo de extractos caña agria (<i>Costus spicatus</i>). Bioterio de la facultad de ciencias. Epoch. Mayo 2013	71
GRÁFICO No. 2	Resultados del porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Bioterio de la facultad de ciencias. Epoch. Mayo 2014.....	72
GRÁFICO No. 3	Aplicación del test ANOVA (análisis de varianzas) para el estudio de actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Epoch. Agosto 2014.....	73
GRÁFICO No. 4	Aplicación del test Tukey para el estudio de actividad antiinflamatoria de los grupos tratados en los diferentes tiempos (horas). Epoch. Agosto 2014	74
GRÁFICO No. 5	Cuantificación de flavonoides totales. Curva Absorbancia vs. Concentración de catequina a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Laboratorio de química instrumental. Facultad de Ciencias. Epoch.....	100

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Vía inflamatoria genérica	2
FIGURA No. 2	Etapas de la inflamación	5
FIGURA No. 3	Liberación de mediadores tisulares.....	10
FIGURA No. 4	Formación de los metabolitos del ácido araquidónico.....	11
FIGURA No. 5	Estructura química del Naproxeno	22
FIGURA No. 6	Mecanismo de acción.....	24
FIGURA No. 7	Caña agria.....	27
FIGURA No. 8	Estructura flavonoides.....	30
FIGURA No. 9	Estructura química quercetina	31
FIGURA No. 10	Isómeros de carragenina.....	34
FIGURA No. 11	<i>Rattus norvegicus</i>	37
FIGURA No. 12	Macroambiente y microambiente	38
FIGURA No. 13	Procedimiento para obtención de extractos.....	52
FIGURA No. 14	Reacción de quelación del ión Al ³⁺ con los flavonoides.....	54

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Materias prima fresca de caña agria (<i>Costus spicatus</i>).....	93
FOTOGRAFÍA No. 2	Materia prima seca y triturada de caña agria (<i>Costus spicatus</i>)	93
FOTOGRAFÍA No. 3	Filtración y concentración de extracto de Caña Agria para tamizaje	93
FOTOGRAFÍA No. 4	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Wagner, Mayer, Sudan III.....	94
FOTOGRAFÍA No. 5	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Baljet, Lieberman-Buchard, Dragendorff	94
FOTOGRAFÍA No. 6	Reacciones de coloración y precipitación.....	95
FOTOGRAFÍA No. 7	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Antocianidinas, Shinoda, Cloruro Férrico	95
FOTOGRAFÍA No. 8	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Catequinas, Resinas, Fehling	95
FOTOGRAFÍA No. 9	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Baljet, Lieberman-Buchard, Saponinas	96
FOTOGRAFÍA No. 10	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Quinonas, Dragendorff, Mayer, Wagner	96
FOTOGRAFÍA No. 11	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Dragendorff, Mayer, Wagner	96
FOTOGRAFÍA No. 12	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Shinoda, Fehling, Baljet, Cloruro Férrico.....	97
FOTOGRAFÍA No. 13	Ensayos de identificación de metabolitos secundarios Cloruro Férrico, Saponinas	97
FOTOGRAFÍA No. 14	Determinación de parámetros físicos del extracto alcohólico: Sólidos Totales, pH, Densidad	97
FOTOGRAFÍA No. 15	Reactivos y materiales utilizados en la cuantificación de flavonoides totales	98
FOTOGRAFÍA No. 16	Espectrofotómetro utilizado para la cuantificación	98
FOTOGRAFÍA No. 17	Cuantificación de flavonoides totales.....	98
FOTOGRAFÍA No. 18	Cromatografía en capa fina para flavonoides.....	99
FOTOGRAFÍA No. 19	Obtención de extracto madre	100
FOTOGRAFÍA No. 20	Dilución y conservación del extracto madre a diferentes concentraciones	101
FOTOGRAFÍA No. 21	Distribución aleatoria y acondicionamiento de los grupos de experimentación.....	101
FOTOGRAFÍA No. 22	Pesos de los grupos experimentales.....	102

FOTOGRAFÍA No. 23	Materiales para el desarrollo de la investigación	102
FOTOGRAFÍA No. 24	Administración de carragenina.....	103
FOTOGRAFÍA No. 25	Administración de extractos.....	103
FOTOGRAFÍA No. 26	Formación de edema plantar	103
FOTOGRAFÍA No. 27	Medición de volumen de inflamación	104
FOTOGRAFÍA No. 28	Disección de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	104
FOTOGRAFÍA No. 29	Extracción de los órganos a investigar	105
FOTOGRAFÍA No. 30	Órganos extraídos estómago, hígado y riñones para análisis macroscópico y microscópico.....	105
FOTOGRAFÍA No. 31	Toma de pesos de los distintos órganos.....	106
FOTOGRAFÍA No. 32	Conservación de estómago, hígado y riñones de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en formol al 10 %	106
FOTOGRAFÍA No. 33	Cortes histológicos de estómago, hígado y riñon de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	107
FOTOGRAFÍA No. 34	Fijación de placas de estómago, hígado y riñon de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) para examen histopatológico.....	107

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Materia prima	93
ANEXO No. 2	Obtención de extractos con diferentes solventes	93
ANEXO No. 3	Tamizaje fitoquímico de Extracto Etéreo.....	94
ANEXO No. 4	Tamizaje fitoquímico de Extracto Alcohólico	95
ANEXO No. 5	Tamizaje fitoquímico de Extracto Acuoso	96
ANEXO No. 6	Control de calidad del extracto etanólico de hojas de Caña Agria (<i>Costus spicatus</i>).....	97
ANEXO No. 7	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales	98
ANEXO No. 8	Análisis cromatográfico de flavonoides	99
ANEXO No. 9	Curva de calibración de catequina usado como patrón en la cuantificación de flavonoides totales	99
ANEXO No. 10	Obtención de extractos para la evaluación de la actividad.....	100
ANEXO No. 11	Evaluación del efecto antiinflamatorio de caña agria (<i>Costus spicatus</i>)	101
ANEXO No. 12	Evaluación de toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas de Caña Agria (<i>Costus spicatus</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. EPOCH.....	104
ANEXO No. 13	Análisis macroscópico del estómago, hígado y riñon. Bioterio de la Facultad de Ciencias. EPOCH	105
ANEXO No. 14	Exámen histopatológico de estómago, hígado, riñon de los animales de experimentación ratas (<i>Rattus norvegicus</i>). Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade.....	107

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se puede encontrar un número considerable de medicamentos para el tratamiento de inflamaciones de distinto tipo e intensidad, sin embargo la gran mayoría de los mismos son causantes de reacciones adversas y toxicidad por lo que se ha considerado desarrollar estudios de vegetales que posean efectos similares a los antiinflamatorios pero que produzcan menor efecto tóxico.

La inflamación es uno de los principales mecanismos de defensa frente a una injuria o daño tisular provocado por diversos agentes, mediante una reacción de tipo local del tejido conjuntivo vascularizado, aparece también como consecuencia de respuestas inmunes adaptativas humorales y celulares frente a antígenos de origen exógeno o endógeno. La respuesta inflamatoria constituye la presencia de signos básicos de una patología como son rubor, tumor, calor, dolor y pérdida de función, siendo un problema de salud humana por la que se busca asistencia médica, con la finalidad de encontrar alivio, para ello se cuenta con diferentes medidas como el uso de fármacos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios no esteroides, siendo este grupo de medicamentos muy usados por la población de nuestro país. (DÍAZ, A. 2003; (PEPPER, I. 2005)

Los AINEs son medicamentos con un riesgo alto de causar efectos adversos se estima que un 10 a 50% de personas que las consumen sufren de problemas gastrointestinales como úlceras gástricas, dispepsias etc, según estudios realizados los problemas relacionados con los AINEs se presenta en mayor magnitud en los países en vías de desarrollo. En el Ecuador según el instituto nacional de estadísticas y censos (INEC) existen 1229.089 adultos mayores y el 69% ha requerido atención médica, a los cuales se les prescribe indiscriminadamente AINEs para tratar enfermedades como artritis reumatoide, artrosis, entre otras, otra causa principal del alto consumo de dichos medicamentos es la automedicación para tratar dolores en muchos casos banales, aumentando así la morbimortalidad en las poblaciones de todos los grupos etarios, en particular de los

adultos mayores. Estudios realizados sobre el consumo de este grupo de medicamentos en países en vías de desarrollo mostraron que de los 315 millones de medicamentos vendidos sin receta médica el 35 a 40% eran para pacientes mayores. (GUILLÉN, P. 2014)

Los productos naturales obtenidos de los vegetales son múltiples entre los que destacan los flavonoides producto del metabolismo secundario de diversas variedades de plantas. Son un amplio grupo de compuestos polifenólicos, importantes en el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, presenta propiedades importantes relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante, antifúngica, antiinflamatoria, antiviral, antidepresiva, antitrombótica y vasodilatadora. La medicina tradicional a base de plantas brinda una ayuda complementaria a eventos patológicos, en la población mundial un 80% depende de plantas para su atención primaria de la salud. El 20 % de la población tiene acceso a la medicina convencional, el uso de medicinal a base de hierbas y suplementos nutricionales se ha incrementado en el último siglo. (PARRIS, WC., SMITH, HS. 2003; MUÑOZ, M. 2014)

La planta herbácea caña agria (*Costus spicatus*) que pertenece a la familia de las *Zingiberaceae* es muy utilizada por la población para el tratamiento de inflamaciones, irritaciones a nivel ocular y bajar la fiebre, además de tener propiedades diuréticas, razón por la cual la planta debe ser analizada. (OCAMPO, Z. 2011)

Este trabajo tiene como finalidad la necesidad de buscar soluciones alternativas a procesos inflamatorios. En el desarrollo de esta investigación se realiza la evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Costus spicatus* mediante el test de edema inducido por carragenina, en reactivos biológicos, utilizando diferentes concentraciones de extracto del vegetal, para poder verificar si existe actividad antiinflamatoria. Se realizó además el control de calidad tanto de la materia prima como de los extractos para garantizar la inocuidad y obtener resultados confiables, se desarrolló el análisis cualitativo de flavonoides mediante cromatografía de capa fina y la cuantificación de los mismos mediante análisis espectrofotométrico (UV). Finalmente se desarrolló el estudio toxicológico.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 INFLAMACIÓN

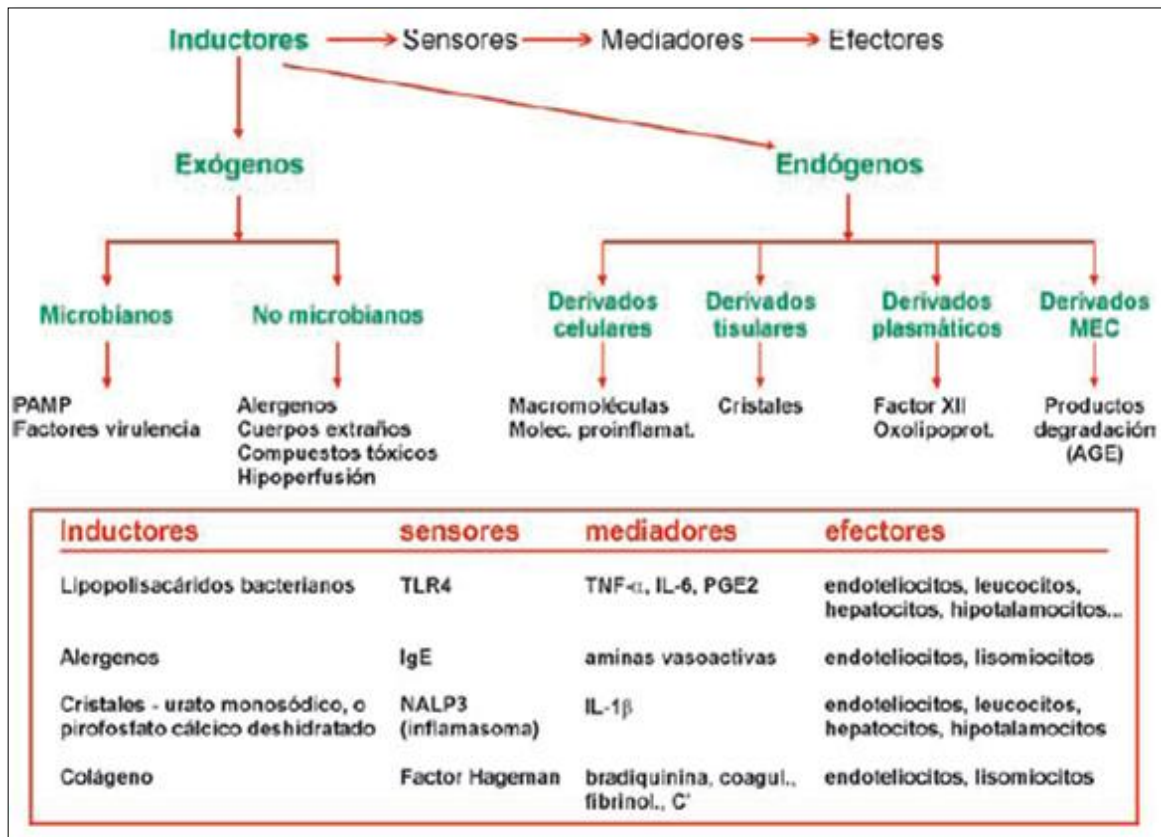
1.1.1 INTRODUCCIÓN

Inflamación es el nombre genérico que engloba a un grupo de reacciones en el tejido conjuntivo vascular como respuesta a una agresión de origen endógeno o exógeno. En este proceso intervienen factores solubles y células, denominados mediadores inflamatorios; mediante los cuales se libera al organismo del agente etiológico, así como del daño que se ha producido. Si no existiese la inflamación, los microorganismos nos invadirían y destruirían fácilmente y la cicatrización de las heridas o la reparación de los traumatismos no se llevarían a cabo. (DUCE, A. 2005)

1.1.2 DEFINICIÓN

La inflamación es un proceso tisular, donde actúa el sistema inmunológico de un organismo, constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares con finalidad defensiva contra agresiones físicas, químicas o biológicas; implica un enorme gasto de energía metabólica. Los aspectos básicos que destacan en un proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede

favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes (GONZALEZ, R. et al. 2010; BORDÉS, R. et al. 2010)



FUENTE: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

FIGURA No. 1 VÍA INFLAMATORIA GENÉRICA

FIGURA No. 1 Una vía inflamatoria genérica incluye, secuencialmente, inductores, sensores, mediadores y efectores.

1.1.3 CLÍNICA

Los signos clásicos de la inflamación son:

Calor, rubor, tumor, dolor e impotencia funcional. Estas son manifestaciones de alteraciones fisiológicas que pueden ocurrir durante el proceso inflamatorio. (DUCE, A. 2005)

- **Calor:** Producido por la vasodilatación como también por el aumento de metabolismo que se desarrolla a nivel de la zona.
- **Rubor o eritema:** Está asociada con la acumulación, consecuencia de la vasodilatación y del éxtasis vascular de la región afectada.
- **Tumor:** Aumento del tamaño como efecto del acumulo de exudado inflamatorio y sangre. (DUCE, A. 2005)
- **Dolor:** Resultado de la irritación de las fibras nerviosas en el área lesionada, consecuencia del daño producido por el agente etiológico; así como por la presencia de mediadores como la bradicinina, la histamina y la prostaglandina E₂, entre otras. (GARCÍA, J. 2006)
- **Impotencia funcional:** Incapacidad del órgano o zona afectada para realizar de forma adecuada su función como consecuencia de las alteraciones producidas en él. (GARCÍA, J. et al. 2006)

La respuesta inflamatoria siempre se acompaña de una respuesta sistémica, de forma que el organismo intenta preparar al medio interno para que los fenómenos inflamatorios se desarrollen en las mejores condiciones posibles. Las manifestaciones clínicas son muy variadas abarcando procesos asintomáticos hasta una afección grave con disfunción de órganos. La respuesta sistémica se da como respuesta al estrés e incluye fundamentalmente trastornos endocrinos como la activación del eje del hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, con incremento en la producción de glucocorticoides, factores de control de inflamación; también incluye secreción de catecolaminas endógenas y disminución de vasopresina, hormona antidiurética que controla el agua corporal, favoreciendo el acúmulo de líquido. (DUCE, A. 2005)

Efectos sistémicos de la inflamación. Se presentan síntomas como astenia, anorexia y malestar general; signos clínicos como fiebre, taquicardia; y signos analíticos como leucocitosis con neutrofilia, reactantes de fase aguda e, incluso, la determinación de mediadores inflamatorios, entre los que destacan los niveles de interleucina-6. (DUCE, A. 2005)

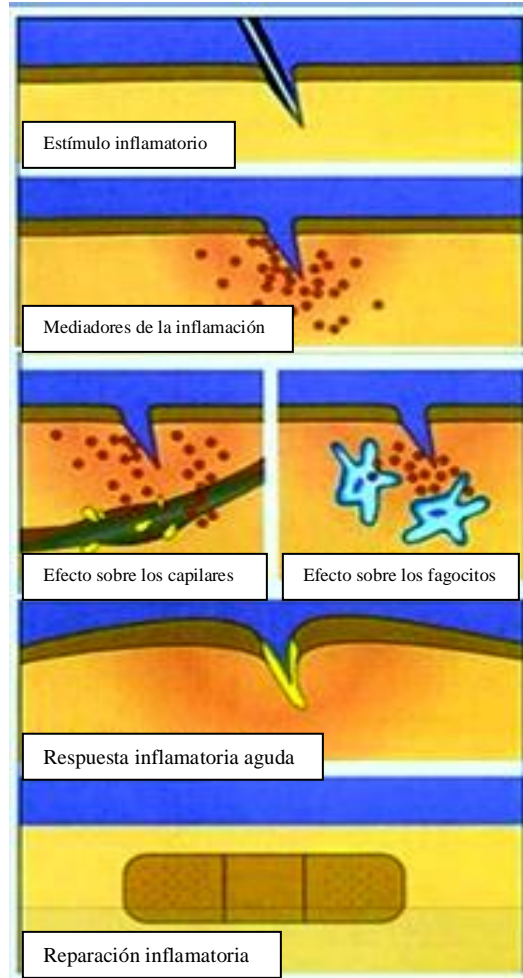
Durante los procesos inflamatorios se produce un gran catabolismo al utilizarse lípidos y proteínas para la obtención de energía; trayendo como consecuencia la pérdida de peso, mialgias por destrucción de proteínas musculares, trastornos en los metales como el hierro y el zinc por alteración de sus proteínas transportadoras y alteraciones en el metabolismo de los fármacos como consecuencia de la disminución de enzimas hepáticas. Mediante la electroencefalografía se ha demostrado también, una alteración del patrón sueño-vigilia, con predominio de somnolencia. (DUCE, A. 2005)

1.1.4 FASES DE LA INFLAMACIÓN:

Esquemización del proceso inflamatorio en cinco etapas:

- 1- Liberación de mediadores. Moléculas que en su mayor parte son de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito, bajo la actuación de determinados estímulos.
- 2- Efecto de los mediadores. Una vez liberadas, estas moléculas 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 de inflamación.
- 4- Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendientes a finalizar o equilibrar el proceso.

- 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. (GONZÁLEZ, R. et al. 2010)



FUENTE: INGRAHAM, J. INGRAHAM, C. 1998

FIGURA No. 2 ETAPAS DE LA INFLAMACIÓN

FIGURA No. 2 Etapas de la inflamación. La inflamación empieza con la aparición de un estímulo, posteriormente se provoca la formación y liberación de mediadores de la inflamación, que actúan sobre los capilares, causando vasodilatación de los mismos incrementando la permeabilidad. También actúan sobre los fagocitos induciendo su activación y la quimiotaxis; el resultado de todo ello es la respuesta inflamatoria aguda. (INGRAHAM, J. INGRAHAM, C. 1998; GARCÍA, P. 2008)

Principales efectos del proceso inflamatorio:

- Alteraciones en el calibre de los vasos sanguíneos y de la velocidad del flujo sanguíneo que pasa por ellos (alteraciones hemodinámicas). Se produce la aceleración del flujo sanguíneo, responsable de los signos de calor y enrojecimiento.
- Aumento de la permeabilidad capilar de la microcirculación. Lo cual permite la salida de líquido rico en proteínas desde los pequeños vasos, responsable del edema que se presenta en el proceso inflamatorio.
- Exudado leucocitario. Se produce según la siguiente secuencia; los leucocitos se desplazan hacia el revestimiento endotelial de los vasos tapizando el endotelio en una forma apretada, estos leucocitos se desplazan por los espacios endoteliales y salen al espacio extravascular donde se encuentran libres para moverse y por quimiotaxis, son dirigidos hacia el sitio de la agresión. (KLAJN, D. BOXACA, M. 1996)

1.1.5 TIPOS DE INFLAMACIÓN

Dependiendo de las características temporales de la inflamación se divide en aguda y crónica. La aguda es la respuesta de breve duración (minutos, horas o unos pocos días), a una lesión pasajera aislada. La inflamación crónica dura 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. (DÍAZ, A. et al. 2003; GARCÍA, J. et al. 2006)

a. Inflamación aguda

La inflamación aguda es la respuesta inicial e inmediata a la lesión se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos a la zona lesionada, donde ayudan a eliminar las bacterias invasoras e inician el

proceso de degradación de los tejidos necróticos. (DÍAZ, A. et al. 2003; ROBBINS, S. et al. 2006)

En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperhemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio. El resultado de todo el proceso es el acúmulo de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos. (DÍAZ, A. et al. 2003)

b. Inflamación crónica

Si la inflamación dura semanas o meses se considera crónica y se producen como consecuencia de otros tipos de daño, como alteraciones en las respuestas inmunitarias, inflamación crónica desde el comienzo asociada a procesos infecciosos (tuberculosis, lepra, etc.), progresión de una inflamación aguda, episodios recurrentes de inflamación aguda. (DÍAZ, A. et al. 2003; INGRAHAM, J. INGRAHAM, C. 1998)

Características importantes:

- El infiltrado celular está compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
- La reacción inflamatoria es más productiva que exudativa, es decir, que la formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos. (DÍAZ, A. et al. 2003)

Microscópicamente la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos y sus derivados (células epitelioides y gigantes), linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos. (DÍAZ, A. et al. 2003)

c. Inflamación crónica granulomatosa

Es un tipo de inflamación crónica que tiene una histología peculiar que consiste en el acúmulo de macrófagos modificados llamados epitelioides formando unos agregados nodulares llamados granulomas. Las células epitelioides se asemejan a células epiteliales; contienen un núcleo vesicular y abundante citoplasma eosinófilo y segregan la enzima convertidor de angiotensina (Kininasa II), la fosfatasa ácida y mucopolisacáridos. Además, los macrófagos pueden fusionarse por efecto del IFN-g y formar células gigantes que contienen hasta 100 núcleos. (DÍAZ, A. et al. 2003)

MOLÉCULAS Y CÉLULAS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN

Entre las células que intervienen en la inflamación destacan los granulocitos neutrófilos y los fagocitos mononucleares. La vida de los neutrófilos es muy corta, sólo de 3 a 4 días. Algunos de los productos de los gránulos son bactericidas, mientras que otros son capaces de degradar la matriz proteica extracelular (Tabla 1). (DÍAZ, A. et al. 2003; MONTERO, T. 2001)

TABLA No. 1 COMPONENTES DE LOS GRÁNULOS DE LOS NEUTRÓFILOS

Primarios	Secundarios
Lisozima.	Lisozima
Mieloperoxidasa	Fosfolipasa A2
Fosfolipasa A2	Colagenasa
Elastasa	Lactoferrina
Catepsinas	Fosfatasa alcalina
Hidrolasas	
Proteína catiónica	
Entre los terciarios destacan: catepsinas y gelatinasa	

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

Muchos de los neutrófilos mueren en los lugares de inflamación liberando los enzimas que pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular. (DÍAZ, A. et al. 2003)

Los fagocitos mononucleares se diferencian en prácticamente todos los tejidos del organismo de distinta manera según el tejido que ocupan, dando lugar a macrófagos. 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. (DÍAZ, A. et al. 2003)

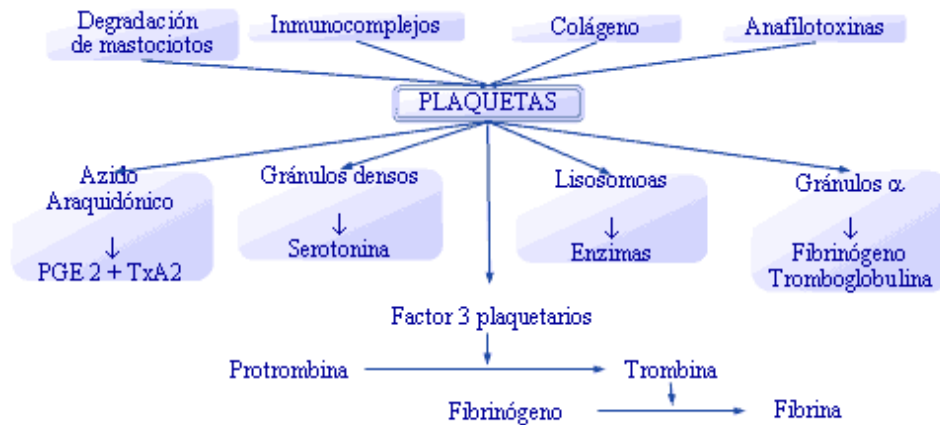
1.1.6 MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilos, macrófagos y linfocitos, los basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también producen mediadores químicos que pueden circular en el plasma o producirse localmente por células presentes en el foco inflamatorio. (DÍAZ, A. et al. 2003)

TABLA No. 2 MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN		
	Mediadores	Origen
Mediadores locales (derivados de células) Mediadores preformados en los gránulos de secreción	Histamina	Mastocitos, basófilos, plaquetas
	Serotonina	Plaquetas
	Enzimas lisosómicas	Neutrófilos, macrófagos
De nueva síntesis	Prostaglandinas	Todos los leucocitos, plaquetas, CE células epiteliales
	Leucotrienos (B4, C4, D4, E4)	Todos los leucocitos
	Factores activadores de las plaquetas	Todos los leucocitos, CE
	Radicales activados del oxígeno.	Todos los leucocitos
	Óxido nítrico	Macrófagos
	Citocinas	Linfocitos, macrófagos, CE
	Quimiocinas	Leucocito, macrófagos activados.
Mediadores sistémicos (derivados de proteínas plasmáticas) Productos de la activación del factor XII (factor Hageman)	Sistema de las cininas (bradicinina)	Kininógeno
	Fibrinopéptidos	Fibrinógeno
Productos de la activación del complemento	C3a Anafilatoxinas. (C3 convertasa)	Complemento

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



Se muestra la activación de plaquetas y liberación de mediadores químicos.

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

FIGURA No. 3 LIBERACIÓN DE MEDIADORES TISULARES

1.1.6.1 Mediadores derivados de células

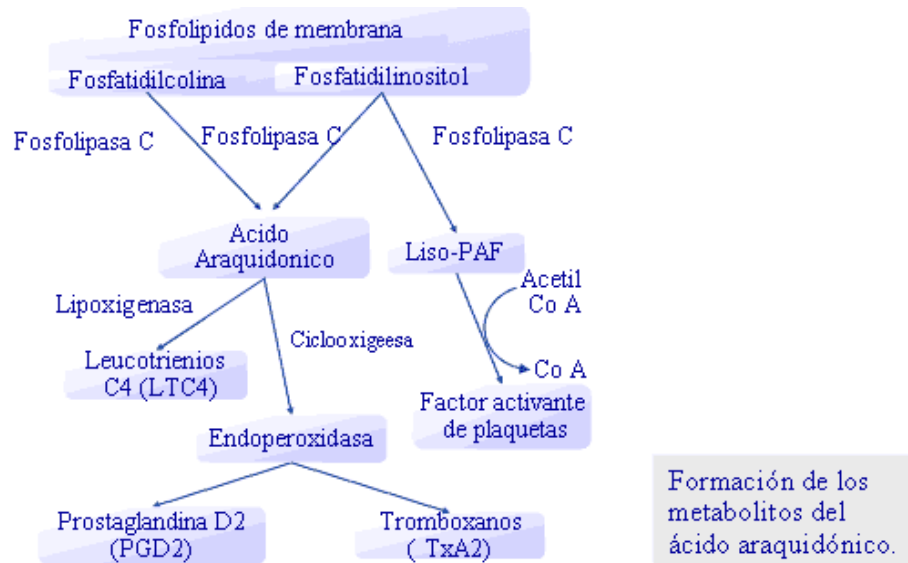
Dentro de estos mediadores tenemos a los macrófagos tisulares, células endoteliales, y células cebadas, en el sitio de la inflamación.

A. PRINCIPALES MEDIADORES QUÍMICOS:

- **Histamina.:** es una amina producida por células cebadas y basófilos, su liberación estimula la bradiquinina y las fracciones del complemento. Su acción es mediada por tres tipos de receptores (H1, H2, H3). Produce dilatación de las arteriolas (vasodilatación), aumentan la permeabilidad vascular y adhesión leucocitaria. (DÍAZ, A. et al. 2003; INFANTE, V. 2011; FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA, 2007)
- **Serotonina.:** ubicado en las plaquetas, su liberación es estimulada cuando estas se agregan tras su contacto con el colágeno, la trombina, el Adenosin difosfato (ADP) y los complejos antígeno-anticuerpo. Como mediador químico estimula la permeabilidad vascular en el proceso inflamatorio. (DÍAZ, A. et al. 2003)
- **Prostaglandinas.:** se produce a partir del AA (ácido araquidónico), el cual es liberado de las membranas por la FLA2. El FLA2s de tipo secretoria, 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). Las prostaglandinas también intervienen en la patogenia del dolor y la fiebre: la PGE₂; potencia el efecto vasodilatador de la histamina y la bradicinina, favoreciendo el aumento del flujo sanguíneo al área inflamada, potencia el efecto de la bradicinina al dolor e interactúa con las citocinas para provocar el aumento de la temperatura corporal (fiebre). Su efecto antiinflamatorio se manifiesta por la disminución de la actividad de células que participan en el proceso inflamatorio; la PGE₂ disminuye la liberación de enzimas lisosomales, la generación de leucotrienos y de radicales libres en los neutrófilos y la liberación de histamina de los mastocitos. La PGD₂ es un potente agente quimiotáctico presente en los mastocitos. (FERNÁNDEZ, L. et al. 2008)

El ácido araquidónico es un ácido graso derivado del ácido linoleico que se encuentra en la membrana celular y bajo estimulación puede ser liberado al exterior de la célula por una fosfolipasa. (DÍAZ, A. et al. 2003)



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

FIGURA No. 4 FORMACIÓN DE LOS METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

La acción de la 15-lipoxigenasa sobre el ácido araquidónico genera además dos metabolitos terminales, las lipoxinas LXA y LXB que tienen efectos estimulantes e inhibidores de las funciones de diferentes leucocitos, razón por la cual se las considera sustancias moduladoras del proceso inflamatorio. (FERNÁNDEZ, L. et al. 2008; RIVEROS, L. 1991)

- **Leucotrienos.:** Los leucotrienos se definen como eicosanoides derivados de lípidos de membrana, que se sintetizan a partir del ácido araquidónico por acción de la enzima 5-lipoxigenasa, esta enzima a su vez necesita de la proteína activadora de la lipoxigenasa (FLAP) para actuar. Hay 4 leucotrienos importantes: LTC₄, LTD₄, LTE₄ y LTB₄. Son producidos por leucocitos y su principal función es la de participar como mediadores de la inflamación. Están involucrados en alergias y asma, entre otras enfermedades inflamatorias. (FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA, 2007)

Los leucotrienos son producidos por leucocitos de tipo mastocitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos y neutrófilos, frente estímulos como IgE, IgG, peptidoglucano o citoquinas. Los cisteinil-leucotrienos, LTC₄, LTD₄ y LTE₄ actúan en la respuesta inflamatoria. Sus células diana son las células del músculo liso de bronquios y de intestino produciendo broncoconstricción y aumento de los movimientos peristálticos, respectivamente. También actúan sobre las células endoteliales de vasos sanguíneos, provocando vasodilatación y aumento de permeabilidad con una llegada de mayor flujo de sangre a la zona. Estas células diana presentan receptores para estos leucotrienos. (FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA, 2007)

El leucotrieno LTB₄ es un potente quimiotáctico que promueve la adhesión de neutrófilos al endotelio vascular y su migración estimula la migración de superóxidos en polimorfonucleares y moviliza además otros importantes mediadores inflamatorios, con producción de edema. (FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA, 2007)

El LTC₄ y el LTD₄ son potentes agentes quimiotácticos para los eosinófilos y, en concentraciones altas, promueven la formación de radicales libres de oxígeno, estando involucrados en procesos inflamatorios intestinales y en el asma. Hay diversos fármacos que se usan específicamente frente al asma cuyo mecanismo de acción está basado en la inhibición de la síntesis de leucotrienos, actuando sobre la 5-lipoxigenasa o la FLAP, o con acción antagonista de receptores de leucotrienos. ((FERNÁNDEZ, L. et al. 2008; FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA, 2007)

- **Factor activador de plaquetas (PAF):** El PAF es un complejo lisofosfolípido-acetilado que induce la agregación plaquetaria y la degranulación. Además, aumenta la permeabilidad vascular, induce la adhesión leucocitaria y estimula la síntesis de derivados del ácido araquidónico. Estos derivados incluyen las prostaglandinas y los leucotrienos. (DÍAZ, A. et al. 2003)

- **Oxido nítrico:** El óxido nítrico se produce por las células endoteliales, macrófagos y neuronas del cerebro. Es responsable de la vasodilatación relajando el músculo liso vascular. 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 guanosín 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. (DÍAZ, A. et al. 2003; HORTON, D. 2013)

- **Citocinas:** inducen a la síntesis de moléculas de adhesión endotelial y mediadores químicos. Las citocinas son los mediadores aparecen en aquellos sucesos con mayor naturaleza proinflamatoria, como el TNF α o la IL-1 β , considerados determinantes fisiopatológicos de la sepsis y shock séptico. También inducen respuestas agudas

sistémicas asociadas con la infección como fiebre, pérdida de apetito y liberación de neutrófilos a la circulación. (CARRASCO, S. 2000)

- **Quimiocinas.** actúan como quimio atrayentes para tipos específicos de leucocitos. Produciendo la activación leucocitaria. (INFANTE, V. 2011)

1.1.6.2 Mediadores derivados de proteínas plasmáticas

- **Cininas.** Es un sistema calicreína-cinina o simplemente sistema cinina; este sistema genera péptidos vasoactivos a partir de proteínas plasmáticas denominadas cininógenos y mediante proteasas específicas llamadas calicreínas, es un sistema poco definido de proteínas sanguíneas de importancia en las inflamaciones, produce la liberación del mono péptido vasoactivo Bradicinina. (MAGENTA, S. 2008; SANMARTÍN, F. 2010; DOMINIÁK, P. 1999)

Efectos de las cininas:

- Contracción del musculo liso.
- Afectan la presión arterial (especialmente la presión arterial baja).
- Actúan incrementando el flujo sanguíneo en todo el cuerpo.
- Ayudan y facilitan el paso de los líquidos a través de pequeños vasos sanguíneos.
- Estimulan los receptores del dolor.
- Forman parte de un sistema complejo cuya función es ayudar a reparar tejido dañado en el cuerpo. (MAGENTA, S. 2008; SANMARTÍN, F. 2010; DOMINIÁK, P. 1999)

Sus mediadores más importantes son: la bradiquinina y la calidina son vasodilatadores y actúan sobre muchos tipos de células. (ROBBINS, F. 2009; DOMINIÁK, P. 1999)

- **Sistema Del Complemento.** Este sistema de complemento es parte de la inmunidad innata y constituye uno de los principales mecanismos efectores de la

inmunidad mediada por anticuerpos. Está compuesto de más de 30 proteínas en el plasma, que interactúan entre sí de modo regulado formando una cascada enzimática; y en la superficie de las células, dentro de las cuales hay proteasas, inhibidores, inactivadores y receptores. La concentración de proteínas del complemento en el plasma es de más de 3 g/L y constituye aproximadamente el 15% de la fracción de globulina. (BERRÓN, R. 2003; IÁÑEZ, E. 1999)

Las moléculas que integran el sistema de complemento son glicoproteínas con diferentes propiedades físico químicas. En su mayoría estas moléculas son sintetizadas en el hígado, excepto (C1q, D). El C1q lo sintetizan células epiteliales y el factor D el adipocito. (BERRÓN, R. 2003; IÁÑEZ, E. 1999)

El componente central del sistema del complemento es una proteína llamada C3, que es crítica para las funciones efectoras de este sistema. Las formas biológicamente activas del C3 son sus productos de escisión proteolítica. (BERRÓN, R. 2003; IÁÑEZ, E. 1999)

Efectos de la activación y fijación del complemento:

- Lisis del microorganismo o célula diana
- Opsonización, con la consiguiente mejora de la fagocitosis, en este punto actúan las opsoninas C3b y C4b (opsinizan los antígenos y solubilizan los complejos inmunes) y las anafilotoxinas C3a y C5a (tienen funciones quimiotácticas, activan a los fagocitos, inducen la degranulación de basófilos y células cebadas, produciendo contracción del músculo liso).
- Amplificación de la respuesta humoral específica
- Eliminación de los inmunocomplejos. (BERRÓN, R. 2003; IÁÑEZ, E. 1999)

TABLA No. 3 ENFERMEDADES INFLAMATORIAS

Enfermedades en las que la inflamación juega un papel patogénico importante	
Anafilaxis Artritis reumatoide Asma Aterosclerosis Colitis ulcerosa Dermatitis atópica Enfermedad de Alzheimer Enfermedad de Crohn (enteritis regional) Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) Esclerosis múltiple Espondilitis anquilosante	Gota Lupus eritematoso Osteoartritis Pénfigo Psoriasis Rechazo xenoinjerto Sarcoidosis Sindr. Isquemia-reperusión Sindr. Fiebre periódica Tiroiditis de Hashimoto Vasculitis
Enfermedades de origen infeccioso en las que la inflamación contribuye a la patología tanto como la toxicidad bacteriana	
Disenteria bacteriana Enfermedad de Chagas Filariasis Gastritis por <i>H. pylori</i> Glomerulonefritis postestreptocócica Hepatitis C	Lepra (forma tuberculoide) Meningitis neumocócica o neissérica Neumonitis fibrosa quística Neumonía viral Sepsis Tuberculosis
Enfermedades de origen diverso en las que la fibrosis postinflamatoria es una causa principal de patología	
Cirrosis hepática (alcohólica o vírica) Esquistosomiasis Fibrosis pulmonar idiopática	Fibrosis pulmonar postirradiación Fibrosis pulmonar inducida por bleomicina Rechazo crónico alógeno

FUENTE: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

1.2 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINES)

1.2.1 INTRODUCCIÓN

Los antiinflamatorios no esteroideos denominados AINEs son los fármacos más ampliamente prescritos e ingeridos en todo el mundo, sin embargo, existe una alta predisposición de generar efectos adversos, llegando a ser en ciertos casos imperceptibles. A pesar de la amplia variedad de preparados, divididos en varios subgrupos según su la estructura química, todos ellos, presentan similares características farmacocinéticas, de toxicidad, presentación clínica y tratamientos comunes, con ciertas excepciones. (URIBE, R. 2004; PÉREZ, A. 1998)

El conocimiento del mecanismo de acción de dichos fármacos requiere de un dominio acerca del metabolismo del ácido araquidónico, para contribuir al uso práctico y racional de tales medicamentos. Por otro lado, la participación de mediadores químicos en el proceso inflamatorio, es un hecho establecido de suma importancia, y en la medida en que

mayor dominio tengamos de la participación de éstos, estableceremos con mayor eficacia el diagnóstico correcto y la terapéutica indicada. (URIBE, R. 2004; PÉREZ, A. 1998)

1.2.2 DEFINICIÓN

Los antiinflamatorios no esteroideos (abreviado AINEs) son un grupo muy variado y químicamente heterogéneo de fármacos principalmente con función antiinflamatoria, analgésica y antipirética, por tanto actúan reduciendo los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre. Dichos fármacos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. (FAJARDO, D. 2007)

Los antiinflamatorios naturales, segregados por el propio organismo, son derivados de los corticoides, las sustancias de origen esteroideo poseen una potente acción antiinflamatoria, pero presentan importantes efectos secundarios. En oposición a los corticoides, el término "no esteroideo" se aplica a los AINEs para recalcar su estructura química no esteroidea y la menor cantidad de efectos secundarios. (FAJARDO, D. 2007)

1.2.3 PRINCIPALES ACCIONES FARMACOLÓGICAS DE LOS AINES

Analgésica: disminuye la sensibilidad de los receptores del dolor.

Antipirética: por inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

Antiagregante plaquetario: por inhibición de la síntesis de tromboxano A₂.

Antiinflamatoria: por inhibición de la síntesis de prostaglandinas. (MARTÍNEZ, F. 2006)

TABLA No. 4 CLASIFICACIÓN DE LOS AINEs SEGÚN SU SELECTIVIDAD COX-2/COX-1

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

FUENTE: http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n4/es_v94n4a19.pdf

1.2.4 CUADRO NACIONAL DE MEDICAMENTOS BÁSICOS

Clasificación Anatómica, Terapéutica y Química (ATC) Dosis Diaria Definida (DDD)

En 1981, la Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para Europa recomendó emplear el sistema de clasificación ATC/DDD en todos los estudios internacionales de utilización de medicamentos. (CHIRIBOGA, D. 2011)

En 1996, la OMS, promovió el Sistema ATC/DDD, como estándar universal para estudios de utilización de medicamentos, que permite su comparación sistemática, en términos de consumo, situación del mercado, gasto, tendencias de patrones terapéuticos; y, posibilite la implementación de actividades de farmacovigilancia. (CHIRIBOGA, D. 2011)

Los datos sobre la utilización de medicamentos desempeñan un papel importante en la calidad del ciclo de atención y son esenciales para administrar la política relacionada con el suministro, fijación de precios, costo y uso de los medicamentos. (CHIRIBOGA, D. 2011)

1.2.4.1 Estructura y nomenclatura

La Clasificación ATC es un sistema de codificación de medicamentos en cinco niveles según el sistema u órgano efector, el efecto farmacológico, las indicaciones terapéuticas y la estructura química del fármaco. (CHIRIBOGA, D. 2011)

Debido a la continua evolución en el campo farmacológico, este sistema es regularmente revisado y actualizado, tarea que realiza el Consejo Nórdico de Medicamentos bajo la coordinación del Centro Colaborativo para Metodología sobre Estadísticas de Medicamentos de la OMS, con sede en Oslo, Noruega. (CHIRIBOGA, D. 2011)

La Clasificación ATC, es de tipo “Alfa-numérica”, es decir, integrada por letras y números, desagregada en cinco niveles.

TABLA No. 5 CLASIFICACIÓN ATC

NIVEL	TIPO					INDICACIÓN
	Alfa	Numérico	Alfa	Alfa	Numérico	
PRIMER	A					Tracto alimentario y metabólico
	B					Sangre y órganos formadores de sangre
	C					Sistema cardiovascular
	D					Dermatológicos
	G					Sistema genitourinario y hormonas sexuales
	H					Preparados hormonales sistémicos, excluye hormonas sexuales e insulinas
	J					Antiinfecciosos para uso sistémico
	L					Agentes antineoplásicos e inmunomoduladores
	M					Sistema músculo-esquelético
	N					Sistema nervioso
	P					Productos antiparasitarios insecticidas y repelentes
	R					Sistema respiratorio
	S					Órganos de los sentidos
	V					Varios
SEGUNDO		00				Grupo Terapéutico Principal
TECERO			B			Subgrupo Terapéutico
CUARTO				A		Subgrupo Químico Terapéutico
QUINTO					00	Principio Activo

FUENTE: http://www.edifarm.com.ec/edifarm_quickmed/pdfs/estructuracnmb.pdf

TABLA No. 6 M SISTEMA MÚSCULO-ESQUELÉTICO

M01 PRODUCTOS ANTIINFLAMATORIOS Y ANTIRREUMÁTICOS								
CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	NIVEL DE PRESCRIPCIÓN	NIVEL DE ATENCIÓN			VÍA ADM.
M01A	Productos antiinflamatorios y antirreumáticos no esteroides							
M01AB	Derivadas del ácido acético y sustancias relacionadas							
M01AB 05	Diclofenaco	Sólido oral	50 mg		x	X	x	O
		Líquido parenteral	25 mg/ml		x	X	x	P
M01AB 15	Ketorolaco	Líquido parenteral	30 mg/ml			X	x	P
M01AE	Derivados del ácido propiónico							
M01AE 01	Ibuprofeno	Sólido oral	400 mg		x	X	x	O
		Líquido oral	200 mg/5ml					O
M01C	Agentes antirreumáticos específicos							
M01CC	Penicilamina y agentes similares							
M01 CC 01	Penicilamina	Sólido oral	125 mg y 250 mg	(p)	x	X	x	O

FUENTE: http://www.lahora.com.ec/frontEnd/images/objetos/Registro_oficial_CNMB_9na_revision.pdf

1.2.5 NAPROXENO

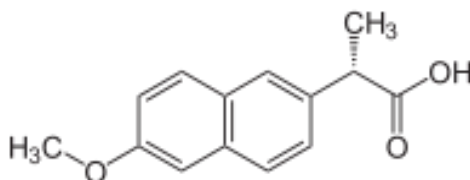
Se trata de un derivado del ácido propiónico, que presenta una relación buena beneficio/riesgo, presentan propiedades antiinflamatorias, analgésica, antitérmica y antiagregante plaquetario, se encuentra en el mercado como ácido o sal sódica, se utiliza como antitérmico y antiinflamatorios en artritis reumatoide, artrosis, espondilitis anquilosante y artritis gotosa aguda; y como analgésicos en el tratamiento de bursitis, tendinitis y dismenorreas. También se utilizan para aliviar el dolor de pacientes posoperatorios, de leve a moderado, el dolor posparto, dolor ortopédico, cefaleas y el dolor visceral asociado al cáncer. (GENARO, A. 2003; FERNANDEZ, L. 2008; TORRES, F. 2005)

Los niveles máximos plasmáticos (aprox. 55mg/mL) se alcanzan dentro de dos a cuatro horas después de la administración oral de una dosis de 500mg, y los niveles del estado estacionario luego de 4 o 5 dosis, con intervalos de 12 horas. (GENARO, A. 2003; FERNANDEZ, L. 2008; TORRES, F. 2005)

1.2.5.1 Estructura

Naproxeno

Ácido (+)-6-metoxi- α -metil-2-naftalenacético



FUENTE: GENARO, Alfonso. et al. Remington Farmacia. 20a ed. Montevideo- Uruguay. Médica Panamericana S.A.

FIGURA No. 5 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL NAPROXENO

Naproxeno sódico

Sal sódica del ácido (+)-6-metoxi- α -metil-2-naftalenaético

C₁₄H₁₃NaO₃. (GENARO, A. 2003)

Características: es una sustancia cristalina, sin olor, de color blanquecino, amargo. Su peso molecular es 230.2628. Presenta un punto de fusión aproximado 155 ° C. El naproxeno y naproxeno sódico son moléculas diferentes; donde los esteres tiene la característica de que se disuelven de mejor manera en el intestino y se absorberán mejor desde el duodeno hacia adelante. (GENARO, A. 2003; FERNANDEZ, L. 2008; TORRES, F. 2005)

Solubilidad del Naproxeno: Prácticamente insoluble en agua a pH 2, totalmente soluble en agua a pH 8 o más; fácilmente soluble en cloroformo y en alcohol; bastante soluble en éter. (GENARO, A. 2003; FERNANDEZ, L. 2008; TORRES, F. 2005)

Solubilidad Naproxeno Sódico: Soluble en agua y en metanol; bastante soluble en alcohol; muy poco soluble en acetona; prácticamente insoluble en cloroformo y en tolueno. (GENARO, A. 2003; FERNANDEZ, L. 2008; TORRES, F. 2005)

1.2.5.2 Mecanismo De Acción

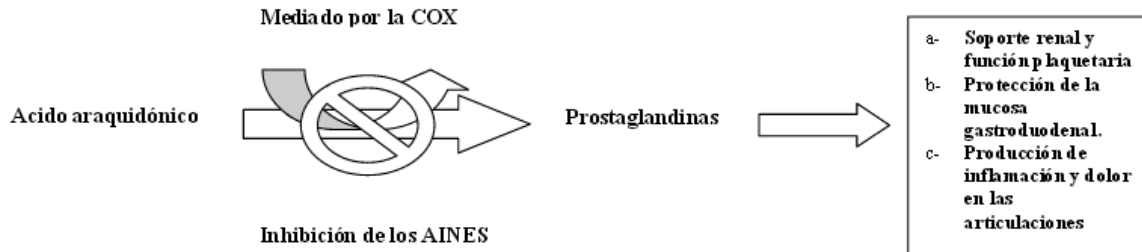
El mecanismo de acción de los AINEs se basa en la inhibición de la producción de un conjunto de mediadores celulares que intervienen en diferentes procesos inflamatorios, tanto patológicos como fisiológicos. Estos mediadores, prostaglandinas y tromboxanos, se producen por acción de la ciclooxigenasa, la COX-1 y la COX-2. (FAJARDO, D. 2007)

La COX-1 intervienen en el control de múltiples funciones fisiológicas, como: vasodilatación arterial, sobre todo renal, activación plaquetaria, aumento de la secreción de moco y reducción de la secreción ácido gástrico. La COX-2 regula la producción de sustancias que controlan tanto funciones patológicas como fisiológicas: aumento de la sensibilidad al dolor, aumento de la temperatura corporal por efecto pirógeno y vasodilatación en las zonas donde se produce el proceso inflamatorio. (FAJARDO, D. 2007)

Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la enzima ciclooxigenasa, evitando así la transformación de ácido araquidónico de las membranas celulares en endoperóxidos cíclicos, los cuales posteriormente se transforman en prostaglandinas y tromboxanos. Las PG y los TX intervienen en los mecanismos de la inflamación, específicamente en el dolor y fiebre, al inhibir su formación reducen la vasodilatación, permeabilidad capilar, infiltración leucocitaria y reducen la actividad de las terminaciones sensitivas. (DURÁN, M. 2008; VALORIA, J. 1994; CASINO, G. 1995)

Posterior al proceso de inhibición de la enzima 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. (DURÁN, M. 2008; VALORIA, J. 1994; CASINO, G. 1995)



FUENTE: HUANG, S. Rheumatology Basics of therapy. CMAJ. 2000

FIGURA No. 6 MECANISMO DE ACCIÓN

1.2.5.3 Farmacología clínica

Posee una absorción rápida y eficiente, cuya biodisponibilidad in vivo es cercana al 95%. Vida media de eliminación está entre 12 y 17 horas. El pico máximo de concentración plasmática se obtiene entre 1 y 2 horas luego de su administración oral. Se une a las proteínas plasmáticas en un 99%. Cruza la barrera placentaria y se excreta en la leche materna, alcanzando concentraciones equivalentes al 1% de la máxima concentración plasmática de la madre. Vida media plasmática: Está entre 12 y 17 horas. Es extensamente metabolizado por el hígado. Finalmente es excretado aproximadamente el 95% de la dosis por la orina y 3% o menos, por las heces. (MENDOZA, N. 2008)

1.2.5.4 Efectos adversos

El Naproxeno posee incidencia menor de efectos adversos que los salicilatos o la indometacina. Los efectos secundarios principales que puede presentar el naproxeno son alopecia, angioedema, alteraciones cognitivas, insomnio, náuseas, dolor abdominal, cefalea, pirosis y dispepsia. Con menor frecuencia se presentan (del 1 al 3%) diarrea, y úlcera digestiva. Las alteraciones de las pruebas hepáticas se presentan en < 1% de los pacientes. (ARIAS, J. 2004; MORENO, J. 2013)

TABLA No. 7 EFECTOS ADVERSOS MÁS COMUNES DE LOS AINES

Reacciones alérgicas	Exantema Prurito Reacciones anafilácticas (raramente)
Sistema nervioso central	Cefaleas (Indometacina, Naproxeno, Ketoprofeno). Mareos, vértigo
Alteraciones digestivas	Nauseas, vómitos, pirosis, úlceras, hemorragias.
Alteraciones renales	Retención de Na ⁺ y H ₂ O, necrosis papilar renal.
Alteraciones hematológicas	Inhibición agregación plaquetaria. Trombopenias, anemias ferropénicas, agranulocitosis, anemias aplásicas.
Alteraciones metabólicas	Deshidratación, hiperglucemia.
Enlentecimiento del parto	Disminución de contracciones uterinas

FUENTE: (ARIAS, J. 2004; TORRES, L. 2001)

A. IMPORTANCIA DE LA FITOTERAPIA

La fitoterapia es una práctica usada desde tiempos ancestrales que constituye una forma de medicina alternativa a base de especies vegetales con gran repercusión en el mundo moderno, ya que permite la recuperación del uso de plantas que contienen principios activos (metabolitos secundarios) con propiedades curativas o poseen una actividad farmacológica, aportando al desarrollo sustentable de la industria farmacológica sin perjudicar el medio ambiente, disminuyendo el uso de productos químicos. Es así, que en los últimos tiempos se ha profundizado el estudio de distintas especies vegetales que poseen propiedades curativas y medicinales. (MURAD, S. 2014)

La fitoterapia es uno de los tratamientos más importantes en nuestro medio ya que generalmente es al primero que se tienen acceso en toda zona geográfica en casos de presencia repentina de síntomas que alertan la aparición de una enfermedad, con los estudios que se han realizado se ha logrado determinar la composición química de las plantas, encontrándose metabolitos con diversas actividades tales como antiinflamatorias,

antimicrobianas, cicatrizantes, hipoglucemiantes, etc; garantizando también la calidad de las drogas utilizadas mediante el control de calidad basadas en normas nacionales e internacionales; siendo estos estudios un aporte favorable al desarrollo de nuevos fitomedicamentos y al tratamiento de diversas patologías a base de fitoterapia.

1.3 PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Existen vegetales cuyos componentes indican que pueden ser usadas como medicina contra una inflamación, generalmente actúan reduciendo el dolor, reduciendo la inflamación; la forma más conocida de uso es en forma de infusión con agua hirviendo, dejándola en reposo hasta liberación de los principios activos, se puede preparar también troceada o en polvo en forma de unguento. (LORETO, E. 2014)

Entre los vegetales más conocidos tenemos:

- Manzanilla
- Limón
- Rábano
- Sábila
- Hierbabuena
- Romero (LORETO, E. 2014)

En Ecuador se han realizado diversos estudios con vegetales tales como *Bonafousia sp*, *Croton menthodium*, *Heisteria acuminata*, *Marsdenia condurango* y *Piperlenticellosum*, utilizando extractos alcohólicos para la evaluación de test de edema de la pata de ratas inducido con carragenina y se afirmó el efecto antiinflamatorio reportado por la población. (CASINO, G. 1995)

1.3.1 CAÑA AGRIA

Descripción taxonómica

Nombre científico: *Costus spicatus*.

Reino: *Plantae*.

Familia: *Zingiberaceae*.

Género: *Citrus*.

Especie: *spicatus*.

División: *Magnoliophyta*

Subclase: *Commelinidae*

Orden: *Zingiberales*



FUENTE: (OCAMPO, Z. 2011)

FIGURA No. 7 CAÑA AGRIA

Nombres comunes: Caña agria, cañita agria, cañita de monte, caña de venado, bordon de viejo, cañita, caña de limón. (OCAMPO, Z. 2011)

1.3.1.1 Hábitat y características botánicas

Originaria de México. Presente en climas cálido, semicálido y templado entre los 800 y los 2600 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra en bosques tropicales subperennifolio y perennifolio. (CÁCERES, A. 2009)

Crece y se desarrolla con una mejor apariencia estando en la sombra, con poca exposición al sol, de ahí que se ha dado un buen asentamiento de esta especie en el bosque tropical del oriente Ecuatoriano. (OCAMPO, Z. 2011)

Es una planta que presenta tallos de 1 a 2 metros de altura no ramificados, con anillos articulados y cilíndricos, sus hojas tienen forma ovalada, alargada y crecen a lo largo de todo el tallo. "Las flores se presentan en grandes espigas y tienen una estructura parecida a una hoja de color rojizo" estas flores solo se llegan apreciar cuando la planta ya es adulta, en su etapa joven solo se van a presentar los tallos con sus hojas verdes. (OCAMPO, Z. 2011)

1.3.1.2 Etnobotánica y antropología

“La caña agria se emplea tradicionalmente, para el tratamiento del mal de orina; cuyo origen se relaciona con excesivo consumo de café, cerveza, melón o molienda (miel de conserva envasada, cuando se hace piloncillo); el enfermo presenta dificultad y dolor al orinar, dolor fuerte en el vientre”. Para el tratamiento se utiliza la capa delgada que se desprende del tallo de la caña agria, colocarlo en remojo por unos minutos y beberlo en ayunas, o a su vez, se hierve el tallo libre de hojas, la persona enferma debe beber una taza por la mañana y otra por la tarde; en ocasiones también se aconseja masticar el tallo que es ligeramente amargo, otro tratamiento puede ser realizando una infusión de las hojas; en algunas preparaciones se sugiere acompañar los preparados con cabellos de maíz o con chote y ojite para obtener un mejor resultado. (CÁCERES, A. 2009)

La población cercana al vegetal menciona que el vegetal es útil para tratar inflamaciones a nivel renal, tratamiento de paperas, “boca pelada” y en infecciones de la vista. En este último caso, se exprime el tallo tierno de caña agria obteniendo gotas del mismo y se coloca con precaución en la vista de la persona afectada. (CÁCERES, A. 2009)

1.3.1.3 Forma de empleo

Se usan los tallos y hojas, en infusión, té, colirio, aguas frescas. (OCAMPO, Z. 2011)

1.3.1.4 Usos medicinales

- Diurética.
- Afecciones de los riñones, inflamación de los órganos del aparato urinario; limpia y purifica los riñones, además de que ayuda a regular su función.
- Mal de orina.
- Ojos irritados.
- Emenagoga. Aumenta la menstruación cuando es escasa.

- Baja la fiebre. (OCAMPO, Z. 2011)

1.3.1.5 Posología y recetas

Té: se limpia y desinfecta las hojas de cala agria, se seca y se ponen a hervir con un poco de agua, en dependencia de la cantidad que se vaya a utilizar en ese momento, la cocción puede endulzarse con un poco de miel, tomándose así por las noches. (OCAMPO, Z. 2011)

Agua fresca: en especial para el tratamiento de inflamaciones a nivel de riñones y vías urinarias. Se procede a licuar las hojas con un poco de agua, se filtra el licuado y se prepara en una jarra con cierta cantidad de agua limpia como agua fresca. De la misma manera que la preparación anterior se puede endulzar con un poco de miel o azúcar morena. Esta se preparación se puede tomar diariamente. (OCAMPO, Z. 2011)

Colirio: para tratar infecciones a nivel ocular. Se corta una parte del tallo tierno, se exprime para extraer unas gotas de este de la manera más estéril posible, posteriormente se coloca una a dos gotas directamente en los ojos con mucha precaución. (OCAMPO, Z. 2011)

Otros: para afecciones a nivel de cavidad bucal, se mastica un pedazo del tallo. Para bajar la fiebre: se pela el tallo, se exprime y se saca el zumo el cual se mezcla con agua para bañar a la persona. (OCAMPO, Z. 2011)

Cuidados y contraindicaciones. No se conocen contraindicaciones. (OCAMPO, Z. 2011)

1.3.1.6 Fitoquímica y farmacología

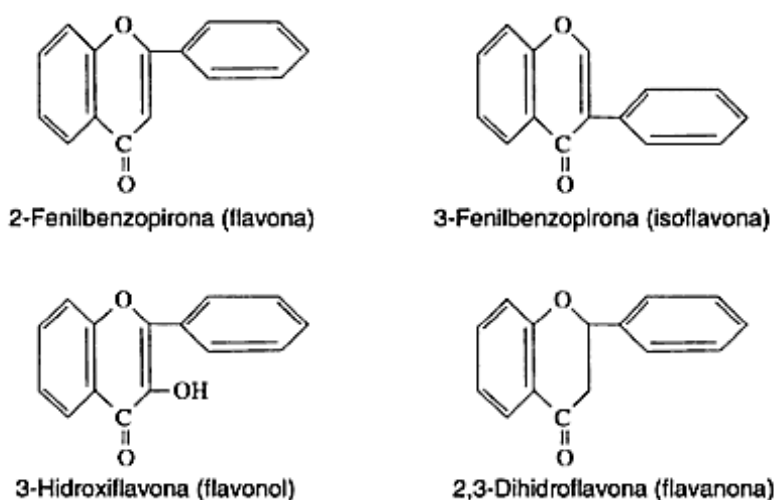
Se han realizado pocos estudios alrededor del vegetal, por ende se conoce muy poco acerca de la fitoquímica de esta planta, los estudios que se han realizado sobre la química

de *Costus spicatus* han reportado presencia de los flavonoides como: cianidín, delphinidín, kaempferol y quercetín en las hojas. (OCAMPO, Z. 2011)

a. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de sustancias vegetales (metabolitos secundarios) ampliamente distribuidos en el reino vegetal en forma universal en plantas vasculares, son compuestos generalmente amarillos responsables de una gran parte de la pigmentación de los vegetales, muchos de ellos se hallan en la corteza de los árboles.

Estructura: hay cuatro tipos fundamentales de flavonoides, que derivan de los cuatro núcleos siguientes. (PRIMO, E. 1995; VALLEJO, J. 2009)

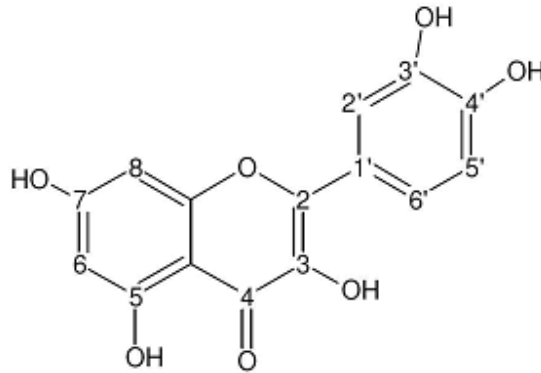


FUENTE: PRIMO, Eduardo. Química Orgánica y Aplicada, Barcelona-España. Reverté. S. A.

FIGURA No. 8 ESTRUCTURA FLAVONOIDES

Usos: son utilizados como colorantes naturales. Otros tienen carácter vitamínico y usos terapéuticos. Los flavonoides se usan para reducir la permeabilidad capilar en venopatías y fragilidad capilar, mejorando la circulación periférica, farmacológicamente los flavonoides han demostrado tener actividad antiinflamatoria, analgésica, antihepatotóxica, antialérgica, antitumoral, antibacteriana, antifúngica y antivírica. (PRIMO, E. 1995; ORTIZ, A. 1994)

b. Quercetina



FUENTE: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042009000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es

FIGURA No. 9 ESTRUCTURA QUÍMICA QUERCETINA

Es un compuesto antihemorrágico y antiagregante plaquetario, como antiagregante inhibe el metabolismo del ácido araquidónico y estimula la secreción de prostacinas las cuales son potentes antiagregantes secretados por el endotelio vascular. También presenta propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, antiherpético, antioxidante, protector capilar, hipotensor, relajante del musculo liso y antidiarreico. (FONNEGRA, R; JIMENEZ, S. 2007)

"La quercetina es un flavonol antioxidante utilizado desde hace más de 30 años para reforzar la resistencia a las alergias alimentarias y respiratorias. Sus defectos biológicos se explican principalmente por su actividad antioxidante, por una sinergia específica con la vitamina C (la quercetina y la vitamina C se protegen y se regeneran mutuamente) y por una actividad antiinflamatoria diversificada y polivalente. También se ha probado que protege los riñones de la toxicidad de los medicamentos". (QUERCETINA.COM, 2012)
Por su amplio espectro se recomienda para todas las afecciones inflamatorias. (OCAMPO, Z. 2011)

Otro componente como el camferol actúa como: antioxidante, antiinflamatorio, antiepiléptico, anti cancerígeno, antiespasmódico, diurético. (OCAMPO, Z. 2011)

1.4 MODELOS DE EVALUACIÓN *IN VIVO* DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

1.4.1 MODELOS DE EVALUACIÓN *IN VIVO*

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria *in vivo* se dispone de modelos que varían en la intensidad de la reacción, y tenemos:

- Modelos de inflamación aguda
- Modelos de inflamación subcrónica ó crónica. (GÓMEZ, H. 2011)

1.4.1.1 Modelos de inflamación aguda

a. Edema plantar por carragenina:

Este método fue descrito por primera vez por Winter and Porter, 1957, posteriormente modificado por Sughisita *et al.*, 1981. Ha sido uno de los métodos de mayor utilidad en la discriminación de fármacos antiinflamatorios por su sencillez y reproducibilidad. Consiste en la administración subcutánea de una pseudo solución de carragenina (un muco polisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus* y *Gigartina stellata*) a nivel de la aponeurosis plantar de la rata o del ratón. El producto a estudiar se puede administrar por diferentes vías, oral, intraperitoneal, etc. (GÓMEZ, H. 2011)

La respuesta a la administración de la carragenina es de tipo bifásica. Durante la primera fase ocurre la liberación de histamina, serotonina y quininas, mientras que la segunda fase está asociada a la liberación de prostaglandinas, bradiquinina, proteasa y lisosoma, con un efecto máximo que se presenta alrededor de 3 h de la inyección de carragenina (Chakraborty *et al.*, 2004). (GÓMEZ, H. 2011)

b. Protocolo experimental por aceite de croton:

Consiste en la administración tópica del aceite de croton, una mezcla de ésteres y otros componentes, los cuales poseen propiedades irritantes. Este método se utiliza farmacológicamente para provocar una inflamación localizada en las orejas de los animales de laboratorio, inflamación que responde a los antiinflamatorios no esteroideos. Puede aplicarse conjuntamente con el colorante azul de Evans con el objeto de determinar la capacidad de la sustancia a evaluar para inhibir la permeabilidad vascular (Hetter, 2000). (GÓMEZ, H. 2011)

c. Edema auricular en ratón inducido por el 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA):

Esta técnica, fue descrita por De Young *et al.*, 1989, y modificada por Payá *et al.*, 1993. De los ésteres de forbol que se extraen del aceite de croton (*Croton tiglium* L.) el TPA es el más potente de todos, este posee propiedades irritantes, pro-inflamatorias y promotora de tumores. (GÓMEZ, H. 2011)

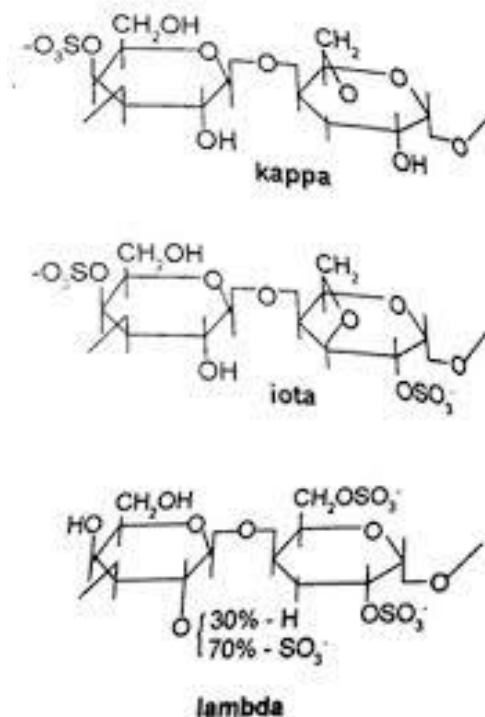
La aplicación del TPA desencadena todos los eventos propios del proceso inflamatorio: vasodilatación y eritema, extravasación y edema. (GÓMEZ, H. 2011)

A nivel histológico, se produce: agregación plaquetaria, agregación y adherencia de compuestos polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), migración a la dermis y degranulación de mastocitos. También, se observa la acumulación y migración de leucocitos al compartimiento subcorneal epitelial, particularmente alrededor de los folículos que degenera en la formación de abscesos subcorneales. La actividad del TPA parece implicar o ser independiente de la liberación y metabolismo del ácido araquidónico, lo que puede ocurrir simultáneamente con o casualmente subsecuente a la interacción del TPA con un receptor de la proteína quinasa C (PKC) estimulándola de modo análogo al diacilglicerol, su agonista natural. (GÓMEZ, H. 2011)

1.4.2 CARRAGENINA

La carragenina es un polisacárido de origen natural que se extrae con agua o solución alcalina de ciertas variedades de algas marinas rojas de la clase *Rhodophyceae*, géneros *Eucheuma*, *Chondrus* y *Gigartina*, especialmente usado dentro de la industria alimenticia y farmacéutica como agente de suspensión, espesante, gelificante, y estabilizante al igual que en la industria cosmética. (GENARO, A. 2003)

1.4.2.1 Estructura química



FUENTE: http://www.hablemosclaro.org/ingrepedia/carragenina.aspx#.U8_t1biHews

FIGURA No. 10 ISÓMEROS DE CARRAGENINA

Químicamente, la carragenina es un polisacárido, formado por polímeros lineales formados a su vez de moléculas alternadas de D-galactosa y 3,6 anhidro-d-galactosa (3,6 AG) unidas por enlaces a α -1,3 y β 1-4; excepto la carragenina lambda, compuesta solo

por unidades de D-galactosa. En su estructura también contienen grupos éster sulfato en diferentes proporciones. (CARRAGENINAS.COM, 2013)

Los tres tipos principales de copolímeros presentes son la *Kappa*-carragenina, la *iota*-carragenina y la *lambda*-carragenina, que difieren en su composición y modo de enlace de las unidades monoméricas y en el grado de sulfatación (el contenido de éster sulfato de las carrageninas varía de 18 a 40%). La *kappa*-carragenina y la *iota*-carragenina son las fracciones gelificantes; la *lambda*-carragenina en la fracción gelificante. Las fracciones gelificantes pueden separarse de la fracción no gelificante por agregado de cloruro de potasio a una solución acuosa de carragenina. La carragenina, separada por secado en tambores puede contener mono- y di-glicéridos o hasta el 5% polisorbato 80 usado como agentes de separación. (BELLUCI, S. 2003; SOLÍS, I. 2007)

TABLA No. 8 ESPECIFICACIONES DE LA CARRAGENINA

ITEMS	ESPECIFICACIONES
Apariencia	Polvo fluido libre y ligero
Perdida por desecación	Máx. of 12%
pH	8-11
Viscosidad del agua	>10 mPa.s
Resistencia del gel al agua	Ausencia
Resistencia del gel de potasio	>1200 g/cm ³
As	Máx. of 1 mg/kg
Zn	Máx. of 50 mg/kg
Pb	Máx. of 1 mg/kg
Cd	Máx. of 0.1 mg/kg
Hg	Máx. of 0.03 mg/kg
Colonia total	Máx. of 10.000 cfu/g
Aerobias mesófilas variable total	Máx. of 5.000 cfu/g
Levaduras y enzimas	Máx. of 100 cfu/g
Reducción de esporas	Ausente en 0.1 g
<i>Salmonella</i>	Negativo en 25 g
<i>Escherichia coli</i>	Negativo en 5 g
Sustancias insolubles en agua caliente	Máx. de 2.0%
Sustancias insolubles en ácidos	Máx. of 2.0%
Peso molecular medio	Min. of 100.000 Daltons
Insectos	Ausencia
Impurezas mecánicas ferromagnéticas	Ausencia

FUENTE: <http://www.gremount.com.cn/spain/pdf/Carragenina.pdf>

Descripción. Polvo grueso a fino, amarillo pardusco a blanco; inodoro; insípido; producen una sensación mucilaginoso en la lengua. (BELLUCI, S. 2003)

Solubilidad. Todas las carrageninas se hidratan con rapidez en agua fría, pero sólo *lambda*-carragenina y las carrageninas de sodio se disuelven por completo. Las carrageninas gelificantes necesitan calentamiento a unos 80°C para su completa disolución cuando están presentes iones de potasio y de calcio. (BELLUCI, S. 2003)

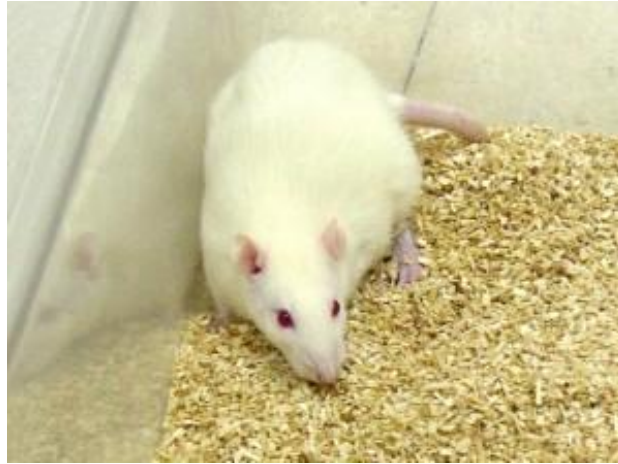
1.5 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

1.5.1 RATA “*Rattus norvegicus*”

En la actualidad, los experimentos con animales se utilizan fundamentalmente en investigación básica y en control de calidad de productos, donde no se han podido sustituir por técnicas alternativas. Los animales de laboratorio deben estar sanos, genéticamente definidos y mantenidos en un ambiente controlado, para que estos resultados experimentales obtenidos sean válidos y reproducibles. (SALVADOR, N. 2012)

Un uso responsable y racional de estos animales de experimentación, conlleva un conocimiento previo de sus características biológicas (anatómicas, fisiológicas, etológicas), y un mantenimiento (alojamiento, alimentación y manejo) apropiado para satisfacer todas las necesidades, promover su salud y bienestar para lograr el fin propuesto. (SALVADOR, N. 2012)

La anatomía y fisiología de la rata indican tienen poca vista, de hecho es difícil saber si son ciegas o no. Presentan un hígado pentalobulado, carecen de vesícula biliar. Las glándulas suprarrenales están más alejadas de los grandes vasos. Las nefronas de la corteza renal son fácilmente accesibles. No pueden regurgitar ni vomitar por lo que son muy sensibles a los tóxicos. Comen de forma semicontinua, aunque en condiciones ad libitum comen principalmente durante el período de oscuridad. (SALVADOR, N. 2012)



FUENTE: <http://www.minifauna.com/2009/07/page/2/>

FIGURA No. 11 *Rattus norvegicus*

1.5.1.1 Descripción física

Rattus norvegicus, considerado como un miembro bastante grande del ratón, es un animal de experimentación que presenta pelaje áspero y grueso con prominentes orejas y cola prácticamente desnudas; la cola es más corta que la longitud del cuerpo. En promedio, estas ratas llegan a medir 400 mm de nariz a cola, su peso varía de de 140 a 500 g. Los machos son generalmente más grandes que las hembras, en general su coloración es café o gris oscuro en las partes superiores, con pelos negros alternados y un color más claro grisáceo en el vientre, varias cepas criadas en cautiverio pueden ser de color blanco, marrón o negro. (ALVAREZ, J. 2005; ARMITAGE, D. 2004)

Las hembras poseen 12 mamas. Al igual que el resto de roedores, poseen cuatro incisivos, dos superiores y dos inferiores, carecen de caninos y premolares anteriores lo que ocasiona que haya un diastema. Sus incisivos crecen toda la vida a partir de la base lo que hace que se sustituya la superficie que se va desgastando por la actividad de roer y cortar materiales duros. (ALVAREZ, J. 2005; ARMITAGE, D. 2004)

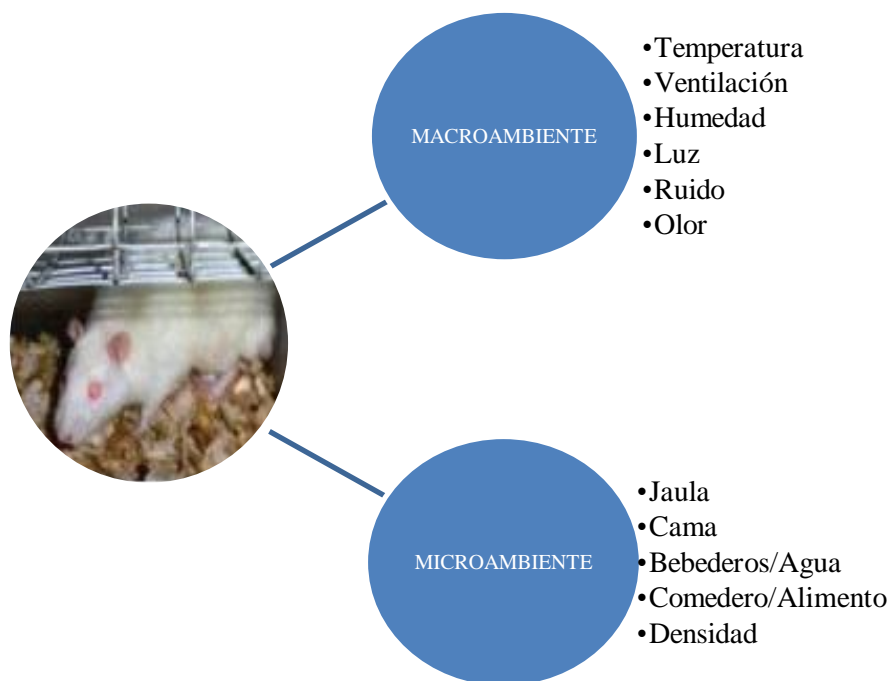
TABLA No. 9 INFORMACIÓN TAXONÓMICA

TAXONOMÍA	
REINO	Animalia
PHYLUM	Chordata
CLASE	Mammalia
ORDEN	Rodentia
FAMILIA	Muridae
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Rattus norvegicus</i> Berkenhout, 1769

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

1.5.1.2 Ambiente

Las condiciones tanto internas como externas que rodean al animal de experimentación son muy importantes para obtener una especie óptima que nos servirán para el desarrollo de diferentes estudios y obtener resultados confiables. (VEGA, E. 1988)



FUENTE: VEGA, E. 1988; ALVAREZ, J. 2005

FIGURA NO. 12 MACROAMBIENTE-MICROAMBIENTE

1.5.1.3 Alimentación

Son omnívoros, comiendo desde material vegetal, animales y especialmente granos, semillas, nueces; aunque se alimentan también de insectos y otros invertebrados. (ALVAREZ, J. 2005)

1.5.1.4 Ciclo reproductivo y tamaño de camada

Una hembra es capaz de tener alrededor de 1 a 12 camadas por año, por ello presentan tasas de natalidad muy altas. Su ciclo reproductivo es durante todo el año; las hembras son receptivas por un periodo de 20 horas, cada 4 a 6 días (Nowak, 1991). (ALVAREZ, J. 2005; ARMITAGE, D. 2004)

Periodo de gestación: 22 a 24 días.

Camada: promedio 8 a 9 crías, estas se tardan de 14 a 17 días en abrir los ojos, y estar cubiertos por pelo, pudiendo dejar el nido a los 22 días (Nowak, 1991), alcanzan su madurez sexual entre los 2 y 3 meses (Nowak, 1991). (ALVAREZ, J. 2005; ARMITAGE, D. 2004)

1.5.2 MANEJO

Las ratas son animales dóciles, de fácil manipulación, no deben manejarse con rapidez o de forma brusca, sobre todo si se encuentran sobre un suelo de rejilla para evitar la rotura de uñas. Si la rata está preñada o es muy grande, se aconseja apoyar el tercio posterior del cuerpo en la otra mano. A veces, al sujetarla por la cola, si se mantiene suspendida gira en redondo en el aire y puede lesionarse al desprenderse la piel del rabo desde el punto de sujeción. Si no se tiene experiencia se pueden ayudar con un guante grueso o un paño al realizar alguna de las manipulaciones siguientes:

- Para sacarla de la jaula: pasando la palma de la mano por debajo del vientre.
- Para determinar el sexo.
- Para inmovilizarla: habitualmente, se coloca una mano alrededor del pecho con el pulgar situado bajo el mentón y el índice alrededor del cuello, y se asegura la cabeza con firmeza. Con el resto de la mano, se sujeta toda la piel de alrededor de los hombros.

También se consigue el mismo resultado, agarrando con una mano un gran pliegue de piel en la zona de la espalda y del cuello. Otra posibilidad es sujetar la piel de la base del cuello y la cabeza, pinzando con el dedo pulgar e índice el área de la oreja, manteniendo la cabeza en línea con el resto del cuerpo. Esta forma de inmovilización se utiliza para administrar sustancias por vía oral. (SALVADOR, N. 2012)

Se pueden utilizar cilindros de plástico para inmovilizarlas durante cortos períodos de tiempo. Estos cepos son útiles en las extracciones de sangre de la cola, y se pueden usar tanto en ratas como en ratones. (SALVADOR, N. 2012)

Los modelos experimentales son herramientas biológicas que han permitido el estudio de procariotes (bacterias y otros microorganismos) y eucariotes (animales y vegetales), facilitando el conocimiento de los procesos de la vida tanto naturales como patológicos, por lo cual, es adecuado conocer su manejo, respetando los derechos de los animales de acuerdo a los tratados de Helsinki. (GONZALEZ, M. 2011)

1.5.3 PRINCIPIOS DE LOS TRATADOS DE HELSINKI.

- Diseño científico y experiencias previas en animales.
- Principio de la proporcionalidad entre riesgos predecibles y beneficios posibles.
- Respeto a los derechos del sujeto, prevaleciendo su interés por sobre los de la ciencia y la sociedad.

- Consentimiento informado y respeto por la libertad del individuo que los riesgos sean razonables frente a los beneficios previstos.
- Que el diseño de la investigación sea acertado.
- Que los investigadores sean competentes.
- Es la obligación ética de lograr los máximos beneficios y de reducir al mínimo el daño y la equivocación.
- Desde tiempos antiguos los griegos y romanos colocaban señales o marcas en los animales para su fácil identificación.
- Todos los métodos utilizados deben gozar de selectividad, aplicación rápida y ser preferentemente indoloros. En ocasiones cuando lo requiere se debe aplicar anestesia local.
- La mayoría de los animales pequeños se tranquilizan rápidamente facilitándose la sujeción cuando ésta se hace de una manera firme sin apretar demasiado. Esto les da una sensación de seguridad. Si un animal se siente inseguro, incómodo o atemorizado, es casi seguro que luchará para librarse, lo que usualmente puede causar heridas al animal o al que lo sujeta. (GONZALEZ, M. 2011)

1.5.4 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Subcutánea: Se jala la piel del dorso o abdomen del animal y se introduce la aguja para realizar la administración. (GONZALEZ, M. 2011)

Esofágica: Se mantiene al animal en forma vertical, sujetando todo el cuerpo, se pone la sonda en el hocico y con movimientos suaves y firmes se introduce la sonda, viendo el movimiento de deglución por parte del animal (Se puede comprobar el paso de la sonda al sentirlo con el dedo índice de la mano que está sujetando al animal). Se le puede administrar el volumen requerido para cada especie, posteriormente, se extrae la sonda con un movimiento firme y suave. (GONZALEZ, M. 2011)

1.5.5 DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR (DCA)

Este diseño consiste en la asignación de los tratamientos en forma completamente aleatoria a las unidades experimentales (individuos, grupos, parcelas, jaulas, animales, insectos, etc.). Debido a su aleatorización irrestricta, es conveniente que se utilicen unidades experimentales de lo más homogéneas posibles: animales de la misma edad, del mismo peso, similar estado fisiológico; parcelas de igual tamaño, etc., de manera de disminuir la magnitud del error experimental, ocasionado por la variación intrínseca de las unidades experimentales. Este diseño es apropiado para experimentos de laboratorio, invernadero, animales de bioterio, aves, conejos, cerdos, etc., es decir, situaciones experimentales como de las condiciones ambientales que rodean el experimento. (CÓRDOBA, J. 2012)

Este diseño es el más utilizado en la experimentación con animales, asociándole la técnica del análisis de covarianza. (CÓRDOBA, J. 2012)

CAPITULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR Y FACTORES DE INVESTIGACIÓN

Comprobación e identificación taxonómica: Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

Control de calidad de la droga (*Costus spicatus*) y preparación de extractos: Laboratorio de fitoquímica, análisis instrumental, y bromatología de la Facultad de Ciencias, escuela de Bioquímica y Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Evaluación de la actividad antiinflamatoria: Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Análisis Histopatológico: Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIA PRIMA

Materia prima (hojas), Caña Agria (*Costus spicatus*) recolectada a una altitud de 924 metros sobre el nivel del mar a temperatura promedio de 25 °C, Humedad Relativa de 80% Época de verano, en la Provincia de Pastaza, Cantón Puyo, Parroquia Canelos, Comunidad Bolivarenses como muestra para posterior realización de extractos.

2.2.2 REACTIVO BIOLÓGICO

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

a. Descripción:

Peso promedio: 328 g

Edad: 4-5 meses

Sexo: Machos/ hembras

Lugar de nacimiento: Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

b. Condiciones ambientales:

Temperatura: 22⁰ C +/- 2

Humedad relativa: 50 % +/-10

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

Cama con viruta: cambio cada 48 horas

Alimentación: pellets de balanceado para roedor 15g/100g peso al día y Agua ad libitum

Periodo de tiempo: 7 días

2.2.3 EQUIPOS

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

- Espectrofotómetro

2.2.4 MATERIALES DE LABORATORIO

- Frasco ámbar estériles de vidrio 500L
- Balón esmerilado de 500 mL
- Tubos de ensayo
- Capsulas de porcelana
- Crisol
- Gradilla
- Balones aforados de 10, 25, 50 y 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
- Mortero con pistilo
- Matraces
- Embudo simple
- Mangueras
- Termómetro
- Placas de vidrio
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Cánula
- Jeringuilla de 1 y 3 mL (NYPRO)
- Algodón
- Guantes, mascarilla, cubre zapatos
- Jaulas para ratas
- Bebederos para ratas
- Cinta métrica

2.2.5 REACTIVOS

- Naproxeno sódico 500 mg
- Carragenina al 1% en suero fisiológico
- Éter dietílico
- Alcohol al 96°
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- 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
- Sílica gel 60 F254 (Merck)
- Formol al 10%
- Cloroformo
- CO₂

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1 COMPROBACIÓN E IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La comprobación e identificación taxonómica de las hojas de Caña Agria (*Costus spicatus*) fueron realizadas en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

2.3.2 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL: MUESTREO

La materia prima hojas de Caña Agria (*Costus spicatus*) fue recolectada a una altitud 924 metros sobre el nivel del mar, temperatura promedio de 25°C, Humedad relativa 80%, en época de verano, en la Provincia de Pastaza, Cantón Puyo, Parroquia Canelos, Comunidad Bolivareense. Se descartó todas las partes aéreas que presentasen algún síntoma de deterioro, se lavó con abundante agua y luego se desinfectó con Kilol DF 100, finalmente se procedió al secado con corriente de aire a una temperatura no mayor de 30 ± 5 °C, para evitar deteriorar algún compuesto químico presente en la planta.

2.3.3 LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Las hojas del vegetal Caña Agria (*Costus spicatus*) se sometió a un proceso de limpieza y desinfección detallado a continuación.

- Se separó las partes aéreas con síntomas de deterioro tomando en cuenta el color y estado físico de la planta.
- Se eliminó las impurezas de las hojas, sumergiéndolas en un recipiente con agua purificada, dos veces.
- Se dejó escurrir en un recipiente limpio por una hora.
- Luego se procedió a desinfectarlas con Kilol DF 100 y se seca en la estufa con corriente aire a una temperatura 30 ± 5 °C.
- Se troceó las hojas en pequeñas partículas y se coloca en un recipiente limpio.

- La droga se almacenó en bolsas plásticas evitando contacto con luz y humedad.

2.3.4 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Extracto etéreo

Se pesó 50 g de material vegetal limpio, seco y troceado, se colocó en un frasco de vidrio con 700 mL de solvente (éter), con lo cual se cubrió completamente la planta y se deja macerar por 48 horas, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) en un lugar fresco y seco alejado de la luz, agitando periódicamente. Se filtró, y se concentró en un rotavapor hasta obtener una tercera parte del extracto; el mismo que se colocó en frasco estéril ámbar y se dejó en refrigeración hasta su uso.

Extracto etanólico

Se pesó 50 g de material vegetal limpio, seco y troceado, se colocó en un frasco de vidrio con 680 mL de solvente (etanol), hasta cubrir en su totalidad el vegetal y se deja macerar durante 48 horas, en un lugar fresco y seco a temperatura de (20 ± 2 °C) alejado de la luz, agitando periódicamente. Se filtró, y se concentró en un rotavapor a 50 °C hasta obtener una tercera parte del extracto; se colocó finalmente en un frasco ámbar y en refrigeración hasta su uso.

Extracto acuoso

Se pesó 50g de material vegetal limpio, seco y troceado se colocó en un recipiente de vidrio con 580 mL de agua destilada, se cubrió completamente la planta y se deja macerar por 48 horas, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) alejado de la luz con agitación normal. Se filtró y se concentró el extracto a 50 °C hasta obtener una tercera parte. El extracto se colocó en un frasco ámbar y en refrigeración.

2.3.5 PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

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

Determinación de cenizas totales: método gravimétrico (determinación en vegetal seco).

Determinación de cenizas solubles en agua: método de calcinación.

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: método de calcinación.

Determinación de Contenido de humedad: método gravimétrico (pérdida por desecación).

2.3.5.1 Parámetros de calidad del extracto etanólico

La evaluación 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.

a. Requisitos organolépticos

Olor. El ensayo se realiza con una tira de papel filtro de 1cm de ancho y 10 cm de largo, se introduce uno de los extremos en el extracto y se determina el olor característico del producto.

Color. Se coloca el extracto hasta las tres cuartas partes de un tubo de ensayo limpio y seco, se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

Sabor. Se toma una pequeña cantidad del extracto en la palma de la mano o en el dedo índice y se hace contacto con la punta de la lengua y se identifica el sabor.

b. Determinación de pH

Se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la lectura, se introduce directamente los detectores del pH-metro en el extracto y se toma el dato de la lectura.

c. Determinación de densidad relativa

Primero se pesó el picnómetro previamente lavado y secado, se llena con la porción de ensayo, se mantiene a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min, se ajusta el líquido al nivel empleado, si es preciso, se usa una tira de papel para extraer el exceso y secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa con mucho cuidado el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con agua destilada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, después de limpiar el picnómetro.

d. Índice de refracción

Este parámetro es una constante característica de cada sustancia. Se mide colocando sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, para encerar. Se ajusta el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Se seca el prisma y se coloca una gota del extracto y se realiza la lectura.

e. Sólidos totales

- Tarar una capsula de porcelana, hasta peso constante a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Tomar una muestra de 5 ml y colocarla en la cápsula previamente tarada.
- Colocar la cápsula en un Baño María hasta que el residuo esté aparentemente seco.
- Pasar a una estufa y dejar hasta un peso constante (3h aproximadamente).

- Finalmente se retira la capsula de la estufa y se coloca en una desecadora hasta lograr temperatura ambiente.

Cálculo.

La cantidad de sólidos totales, expresado en %, R, se calcula de la siguiente manera:

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

Donde:

P_r = masa de la cápsula más el residuo (g)

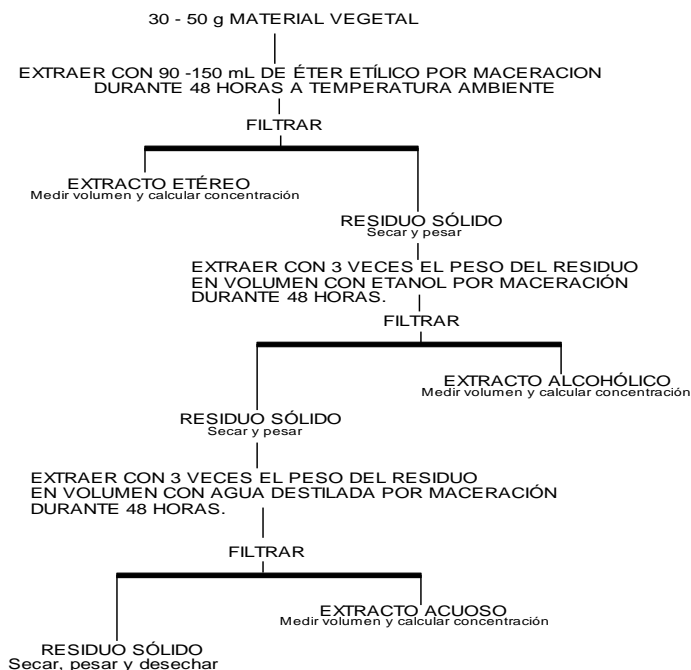
P = masa de la cápsula vacía (g)

V = volumen de la porción de ensayo.

100 = factor matemático para el cálculo.

2.3.6 ESTUDIO QUÍMICO CUALITATIVO (TAMIZAJE FITOQUÍMICO)

Para este estudio se sigue un esquema de extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente, con la finalidad de extraer la mayor cantidad de principios activos presentes en el vegetal.



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS. EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.
FIGURA No. 13 PROCEDIMIENTO PARA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

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.10 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE METABOLITOS SECUNDARIOS

	METABOLITO	ENSAYO
EXTRACTO ETÉREO, ALCOHÓLICO Y ACUOSO	Aceites y Grasas	Sudan III
	Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner
	Lactonas y Cumarinas	Baljet
	Triterpenos - Esteroides	Lieberman – Buchard
	Catequinas	Catequinas
	Resinas	Resinas
	Azúcares reductores	Felhing
	Lactonas	Baljet
	Saponinas	Espuma
	Fenoles y Taninos	Cloruro Férrico
	Aminoácidos	Ninhidrina
	Quinonas	Borntrager
	Flavonoides	Shinoda
	Antocianidina	Antocianidina
	Mucílagos	Mucílagos
	Sabor	Principios amargos

FUENTE: CHIMBO, M. 2014

2.3.7 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL MARCADOR QUÍMICO FLAVONOIDES

Fundamento

La cromatografía en capa fina es una técnica importante de identificación y separación de compuestos, permitiendo obtener información sobre la homogeneidad de compuestos químicos del producto y garantiza que las sustancias responsables de la actividad farmacológica estén presentes en los niveles adecuados. Se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio, donde actúan dos fases una móvil líquida y la fase estacionaria sólida. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de tal forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. (CASTAÑEDA, C. et al. 2002; AMAGUAYO, S. 2013)

Para la detección flavonoides se usó la técnica de cromatografía de capa fina de Wagner H. 1996.

Procedimiento

- Se utilizó el extracto etanólico concentrado para realizar la cromatografía.
- Se coloca una pequeña muestra (10 uL) del concentrado etanólico en una placa cromatográfica de sílica gel 60 F₂₅₄ con un capilar.
- Se aplica el extracto tres veces en el mismo punto, dejando secar después de cada aplicación.
- Se prepara el solvente de corrido y se deja reposar por unos minutos en la cuba tapada para saturar el vapor.
- Se colocó la placa en la cuba cromatográfica, y se dejó correr el solvente hasta las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Se retiró la placa de la cuba y se deja secar para observarla en la lámpara UV 365 nm.

- Se reveló la placa con vapores de sulfato de cerio y se dejó secar al calor del reverbero.
- Se observó la fluorescencia coloreada nuevamente a la luz UV (365nm), y se toma nota de los Rf.

Cálculo:

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

Condiciones de ensayo

Adsorbentes: Sílica gel 60 F254

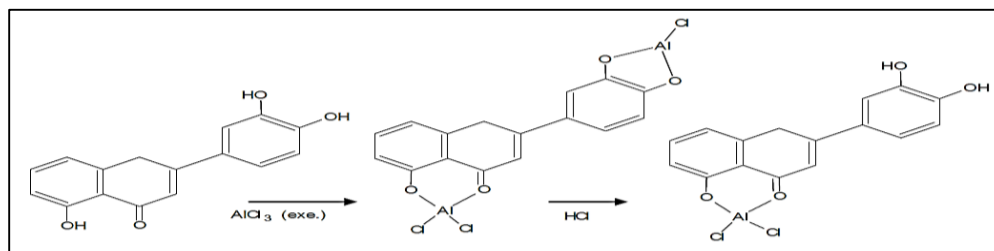
Sistema de solventes: cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelador: Sulfato de Cerio

2.3.8 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES (Método del AlCl_3) EXPRESADOS COMO RUTINA.

Fundamento:

El tricloruro de aluminio anhidro (AlCl_3) forma quelatos con flavonoides orto-dihidroxisilados, 3-hidroxisilados y 5-hidroxisilados en medio básico. Estos quelatos presentan una coloración rosada indicando la presencia de flavonoides. Los valores de flavonoides totales son expresados en valores de mg del flavonoide empleado como estándar equivalente por gramo de muestra. (PALOMINO, L. y otros. 2009; RIOFRÍO, K. 2014)



FUENTE: MARKHAM, 1968.

FIGURA No. 14 REACCIÓN DE QUELACIÓN DEL IÓN Al^{3+} CON LOS FLAVONOIDES.

Procedimiento

- 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 alcohólico de *Costus spicatus* y se colocó en un tubo de ensayo, a continuación se añade 400 μL de agua bidestilada.
- Se añadió inmediatamente 38 μL de NaNO_2 al 5% p/v, se homogeniza y se somete a la mezcla a un reposo cerrado a temperatura ambiente por 5 minutos.
- Transcurrido el tiempo se añadió 38 μL de AlCl_3 al 10% p/v, se agitó, y se dejó en reposo, cerrado a temperatura ambiente durante 6min.
- Para finalizar la reacción se agregó 250 μL de NaOH 1M más 24 μL de agua bidestilada, completando así un volumen final de 1250 μL .
- La absorbancia fue medida inmediatamente transcurrido el tiempo de reacción a 510 nm en un espectrofotómetro UV – visible. El ensayo se realizó por triplicado.
- 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.
- El contenido de flavonoides totales se calculó en base a la ecuación de la recta del estándar utilizado (catequina). (Ver Anexo No. 8)

Fórmula: $Y = 0,0106 X + 0,0093$

Donde:

Y = Absorbancia

X = Concentración de flavonoides

2.3.9 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*).

Población

Número de animales: 18 ratas

Nombre Científico: *Rattus norvegicus*

Sexo: Machos/Hembras

Peso: 293-363 g

Edad: 4-5 meses

Alimento: Balanceado para roedor en forma de pellets y Agua ad libitum.

TABLA No. 11 DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS POR EXTRACTOS

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO	NUMERO DE ANIMALES
A	Blanco	Sin tratamiento	3
B	Control -	Edema inducido por carragenina	3
C	Control +	Edema inducido por carragenina + Naproxeno Sódico	3
D	Grupo Tratamiento 1	Edema inducido por carragenina + Extracto Alcohólico al 20%	3
E	Grupo Tratamiento 2	Edema inducido por carragenina + Extracto Alcohólico al 40%	3
F	Grupo Tratamiento 3	Edema inducido por carragenina + Extracto Alcohólico al 80%	3
TOTAL			18

FUENTE: CHIMBO, M. 2014.

2.3.9.1 Protocolo farmacológico

a. Periodo de ambientación

Se ambienta 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

Periodo de fotoluminiscencia: 12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad.

Alimentación: pellets de balanceado para roedor 15g/100g peso al día y Agua ad libitum.

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. Durante este periodo además se debe alcanzar una homologación de pesos adecuada.

MODELO EXPERIMENTAL

TABLA No. 12 DENOMINACIÓN DE GRUPOS PARA LA INVESTIGACIÓN

GRUPOS	REPETICIONES		
GCB	R1	R2	R3
GCN	R1	R2	R3
GCP	R1	R2	R3
GE1	R1	R2	R3
GE2	R1	R2	R3
GE3	R1	R2	R3

FUENTE: CHIMBO, M. 2014.

DONDE:

GCB: Grupo control blanco, administración vía oral de vehículo.

GCN: Grupo control negativo, administración de 0,05mL de carragenina al 1%.

GCP: Grupo control positivo, administración vía oral de Naproxeno Sódico 500mg (7mg/kg) mas carragenina 0,05mL al 1%.

GE1: Grupo experimental 1, administración de 0,05mL de carragenina al 1% más extracto de etanólico 20%.

GE2: Grupo experimental 2, administración de 0,05mL de carragenina al 1% más extracto etanólico 40%.

GE3: Grupo experimental 3, administración de 0,05mL de carragenina al 1% más extracto etanólico 80%.

b. Inducción de la patología

- Prueba del edema a la Carragenina según Winter.
 - Concentración de carragenina: 0.05 mL al 1%.
 - Intervalo de aumento de inflamación: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la administración de carragenina. Diferencia de volumen.
 - Vía de administración: Vía subcutánea(aponeurosis plantar de la pata derecha)
 - Cálculo de porcentaje de inflamación
 - Volumen de inflamación producido:

$$Volumen = \pi/4d^2h$$

Dónde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

π = 3.14

Porcentaje de inflamación

$$\%Inflamación = \frac{VControl\ positivo - VControl\ normal}{VControl\ normal} \times 100$$

Dónde:

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

V normal = volumen normal antes de la aplicación de carragenina.

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

$$\%Inhibición = \frac{VControl - Vproblema}{VControl} \times 100$$

Dónde:

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

Vol. Problema= volumen del grupo problema

c. Periodo de evaluación farmacológico

Poner las ratas en ayuno de 12 horas antes de empezar con la evaluación de la actividad antiinflamatoria. Inyectar carragenina 1% (0.05mL en la aponeurosis plantar de la pata derecha), 30 minutos después de la administración intragástrica de la sustancia a estudiar.

TABLA No. 13 EVALUACIÓN FARMACOLOGICA

N° GRUPO	GRUPOS	TRATAMIENTO/ ADMINISTRACIÓN	EVALUACIÓN			N° RATAS
			Tiempo/ horas	% de inflamación	De % de inhibición	
1	G ₁ Blanco	Sin tratamiento Vehículo agua más Tween 80 al 1% (vía oral)	0-6	X1	%	3
2	G ₂ control (+)	Administración de 1mL de solución de Naproxeno Sódico de 500 mg a un concentración de 7mg/kg (vía oral)+0.05 ml de carragenina al 1 %	0-6	X2	%	3
3	G ₃ Control (-)	Edema inducido mediante 0.05mL de carragenina al 1% (vía subcutánea a nivel de aponeurosis plantar)	0-6	X3	%	3
4	G ₄ Extracto 20%	Edema inducida con 0.05 ml de carragenina al 1% + Extracto alcohólico al 20 %	0-6	X4	%	3
5	G ₅ Extracto 40%	Edema inducida con 0.05 ml de carragenina al 1% + Extracto alcohólico 40 %	0-6	X5	%	3
6	G ₆ Extracto 80%	Edema inducida con 0.05 ml de carragenina al 1% + Extracto alcohólico 80%	0-6	X6	%	3
TOTAL						18

Se selecciona aleatoriamente 6 grupos de tres ratas que se servirán como Blanco, Control Negativo, Control Positivo, Experimento Neto.

La inflamación se cuantifico midiendo el volumen de las patas a las 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la inyección de carragenina.

2.3.10 ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA

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. (DOSIS LETAL. ORG, 2000)

2.3.10.1 Diseño experimental

Aleatoriamente se conforma un grupo de cuatro ratas, de cuatro meses de edad, de 355 ±10 g de peso, dejándolos en ayunas por 24 horas con agua *ad libitum* y mantenidos a temperatura 22 °C +/- 2. Los cuales están aptos para realizar el estudio de toxicidad aguda con administración vía oral de la dosis máxima del extracto utilizando en el ensayo de actividad antiinflamatoria.

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

Las observaciones estuvieron dirigidas a signos y síntomas de toxicidad entre ellas tenemos: actividad general, grito, irritabilidad, respuesta al toque, huida, contorsiones patas posteriores, enderezamiento, tono corporal, convulsiones, lagrimación, micción, defecación, piloerección, número de muertos.

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 de los animales 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, siendo entre ellos: riñón, hígado, estómago. Con los cuales se realizó el estudio histopatológico para investigar daño a nivel tisular.

Los pesos de los ratones en sus diferentes tiempos se procesaron estadísticamente para obtener la media. (BOTHAM, P. 2003)

Para determinar la DL_{50} los datos obtenidos anteriormente se analizan utilizando el método de Karber y Beherens.

$$DL_{50} = Df \frac{\sum(axb)}{n}$$

Dónde:

Df = 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.

2.3.10.2 Examen anatomopatológico e histopatológico

Una vez terminada la etapa de ensayo de toxicidad los animales de experimentación fueron sacrificados, mediante eutanasia por CO₂, seguidamente se procedió a realizar la

necropsia macroscópica y en caso de haber algún tipo de alteración se toma nota de cada una; en parámetros como: color, peso, tamaño, largo, ancho y profundidad de los principales órganos farmacocinéticos estómago, hígado y riñones, las muestras tomadas son colocados en frascos con formol buferado al 10 %, para su posterior análisis histopatológico con muestras preparadas en placas y teñidas adecuadamente, esto con la finalidad de corroborar el nivel de daño a nivel tisular con la ayuda de un microscopio.

2.3.10.3 Análisis estadístico

La investigación se realizó con tres repeticiones con el objeto de obtener resultados más confiables. Para el análisis de datos se aplicó el test ANOVA (Análisis de varianza) que permite medir la variación total de los resultados obtenidos. Y posteriormente se aplicó la prueba de Tuckey al 5% para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados.

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se detallaran los resultados de los ensayos descritos en los capítulos anteriores, los mismos que son necesarios realizar para garantizar el éxito de la actividad a analizar, así como el efecto en sí.

3.1 CONTROL FÍSICO-QUÍMICO DE LA DROGA CRUDA

Los rangos de las especificaciones están dadas por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos y la Farmacopea Británica y Española (2010). (NEFT; MUÑOZ, M. 2014).

CUADRO No. 1 RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. FEBRERO 2014

PARÁMETRO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN NEFT
Determinación de Humedad	7,97 %	10 %
Determinación de Cenizas Totales	6,3 %	12 %
Determinación de Cenizas Solubles en Agua	5,3 %	7 %
Determinación de Cenizas Solubles en Ácido	5 %	5 %

En el cuadro No. 1 se puede apreciar que los datos obtenidos se encuentran dentro de los rangos establecidos según la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001) y Farmacopea Británica y Brasileña (2010); lo cual garantiza la calidad de la droga vegetal.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*).

Se realizó el control de calidad del extracto blando obtenido por maceración en alcohol al 96 % de las hojas de caña agria (*Costus spicatus*).

3.2.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO

CUADRO No. 2 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2014.

PARÁMETRO	RESULTADO
Olor	Picante
Color	Verde oscuro
Sabor	Ligeramente Amargo
Aspecto	Líquido

En el cuadro No. 2 se indica las características organolépticas del extracto etanólico de caña agria (*Costus spicatus*), es un líquido color verde oscuro, ligeramente amargo y de olor picante característicos de su especie.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO

CUADRO No. 3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2014

PARAMETRO	RESULTADO
pH	6,4
Densidad relativa	0,95012 g/mL
Índice de refracción	1,37
Sólidos totales	3,77%

En el cuadro No. 3 se observan los resultados de los parámetros físicos analizados en el extracto etanólico, obteniéndose un pH=6,4; que garantiza la presencia y estabilidad de compuestos químicos propios del vegetal como los flavonoides, alcaloides, ácidos grasos entre otros, conservando de esta forma su actividad.

La densidad relativa del extracto etanólico fue de 0,95012 g/mL, siendo mayor que la densidad del solvente puro usado que tiene un valor de 0,789 g/mL; esto nos indica que en el extracto se encuentran sustancias en disolución.

El índice de refracción medido fue de 1,37, siendo mayor en comparación al índice de refracción del agua que es 1.333; lo cual ponen en evidencia la presencia de sustancias disueltas en el medio.

En cuanto al porcentaje de sólidos totales nos permite estimar la cantidad total de materia disuelto en el medio, específicamente residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos), habiéndose obtenido un porcentaje de 3,77 %, que nos indica la gran cantidad de metabolitos secundarios extraídos por maceración en medio alcohólico.

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico o conocido también como “screening” fitoquímico, es un estudio de tipo cualitativo, permite identificar los principales compuestos químicos del vegetal en estudio. Se basa en reacciones sensibles y reproducibles de coloración y precipitación, con el uso de solventes adecuados.

CUADRO No. 4 RESULTADOS DE CALIDAD CUALITATIVA (TAMIZAJE FITOQUÍMICO) DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.MARZO 2014.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETEREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Compuestos grasos	Sudan III	(-)		
Alcaloides	Dragendorff	(-)	(++)	(+)
	Mayer	(-)	(+)	(+)
	Wagner	(-)	(++)	(+)
Cumarinas	Baljet		(+)	(++)
Triterpenos y esteroides	Lieberman - Buchard		(+)	
Catequinas	Catequinas		(-)	
Resinas	Resinas		(-)	
Azucares reductores	Fehling		(+++)	(+)
Saponina	Espuma		(-)	(-)
Taninos y fenoles	Cloruro Férrico		(+++)	(+++)
Quinonas	Borntrager		(+++)	
Flavonoides	Shinoda		(+++)	(+)
	Antocianidina		(+)	
Mucílagos	Mucílagos			(-)
Principios amargos	Principios amargos			Ligeramente amargo

(-): Sin evidencia del metabolito; (+): Baja evidencia; (++): Evidencia considerable; (+++): Alta evidencia

El análisis fitoquímico se realizó en tres tipos de extractos elaborados por extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr la mayor extracción posible de los compuestos químicos presentes en el material vegetal seco. Los

compuestos que se extraen se denominan metabolitos secundarios, los solventes utilizados son éter dietílico, etanol 96% y agua.

Los principios activos se van a extraer de acuerdo con la polaridad del solvente utilizado; es así que por maceración de la droga seca con éter dietílico, etanol 96% y agua; estos extraerán compuestos liposolubles, compuestos de polaridad intermedia y compuestos hidrofílicos respectivamente. El extracto obtenido con etanol 96% será el de mayor interés en esta investigación.

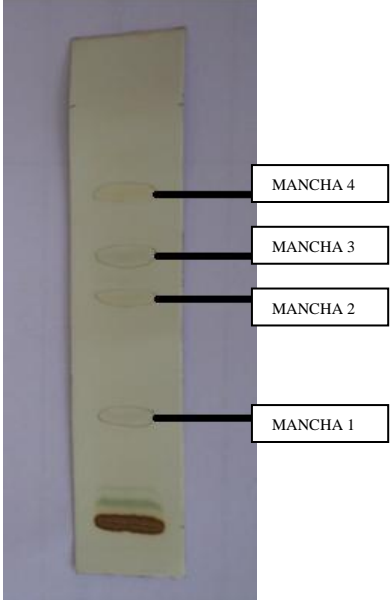
En la tabla se muestra los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los principales compuestos químicos como: flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos, cumarinas, taninos, fenoles, resinas, azúcares reductores. (MEJIA, M. Y OTROS. 2009; MUÑOZ, M. 2014).

La mayor parte de los metabolitos presentes en la planta se encuentran en extracto etanólico al 96%, lo cual se debe a la polaridad intermedia del solvente que permite una mayor extracción de compuestos por su afinidad. Los flavonoides y compuestos fenólicos están presentes en gran cantidad en el vegetal lo que le otorga propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias de gran interés en esta investigación.

3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

3.4.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE FLAVONOIDES

CUADRO No. 5 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES SEGÚN SU Rf EN CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2014.

TLC-EXTRACTO ETANÓLICO	Cálculo de Rf	Compuesto	Especificación
	$Rf = 6.2/7.8 = 0.79$	Kaempferol	0.77
	$Rf = 5.1/7.8 = 0.65$	Flavonona	0.65
	$Rf = 4.3/7.8 = 0.55$	Dihidroxi flavona	0.54
	$Rf = 2/7.8 = 0.25$	Quercetina	0.27

FUENTE: WAGNER, H. 1996; SARIÉ, M. et al. 2003

Los resultados de la cromatografía en capa fina presentados en el cuadro No. 5 indican los posibles compuestos presentes e identificados a partir de sus Rf calculados. Estos Rf se compararon con los citados por Wagner H. 1996 y Sarié, M. 2003. Para estándares de flavonoides, determinándose que posiblemente se trate de los siguientes compuestos: kaempferol, Flavonona, Dihidroxi flavona y quercetina. (WAGNER, H. 1996; SARIÉ, M. et al. 2003)

3.5 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE RUTINA

Para la curva de calibración la lectura se realizó una longitud de onda de 510 nm, y como estándar catequina. Para la determinación de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico de caña agria se obtuvieron los siguientes resultados.

CUADRO No. 6 DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS EN mg DE CATEQUINA/ g DE MUESTRA EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Absorbancia	Concentración en ppm (μg de catequina/mL de extracto)	Contenido de flavonoides totales en mg de catequina/ g de muestra
0,710	1730,43 \pm 54	1,8

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

En el cuadro No. 6 se muestran los resultados obtenidos de la concentración de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico en función de catequina encontrándose 1.8 mg de catequina/g de muestra, lo que confirma los resultados obtenidos en el análisis cualitativo. (Ver Cuadro No. 4)

3.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA.

Se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de caña agria (*Costus spicatus*), administrado por vía oral en diferentes dosis 20%, 40% y 80% respectivamente.

CUADRO No. 7 RESULTADOS DEL VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Volumen de inflamación						
Tiempo	GEB	GEN	GEP	GE1	GE2	GE3
1	1,78 ±0,23	2,37±0,16	2,64±0,24	2,75±0,24	2,57±0,17	2,49±0,29
2	1,78 ±0,23	3,25±0,16	2,55±0,35	2,87±0,14	2,62±0,14	2,49±0,29
3	1,78 ±0,23	3,63±0,14	2,33±0,35	2,93±0,23	2,68±0,23	2,33±0,28
4	1,78 ±0,23	4,05±0,14	2,33±0,35	2,96±0,47	2,56±0,15	2,25±0,40
5	1,78 ±0,23	4,39±0,25	2,28±0,37	2,69±0,13	2,45±0,13	2,14±0,27
6	1,78 ±0,23	4,39±0,25	2,28±0,37	2,69±0,13	2,45±0,13	2,14±0,27

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

En el cuadro No. 7 se encuentran los datos obtenidos del volumen de inflamación según el tratamiento al que fue sometido cada grupo, se puede observar cómo va variando el volumen de inflamación vs tiempo.

Este cuadro permite analizar el comportamiento de los grupos experimentales tratados con extracto etanólico de caña agria en comparación con el control positivo Naproxeno Sódico, siendo el grupo experimental 3 de extracto al 80% el que presenta actividad antiinflamatoria similar al grupo experimental positivo.

Este resultado puede deberse a la gran concentración de flavonoides presentes en la planta, los cuales participan directamente en el proceso inflamatorio.

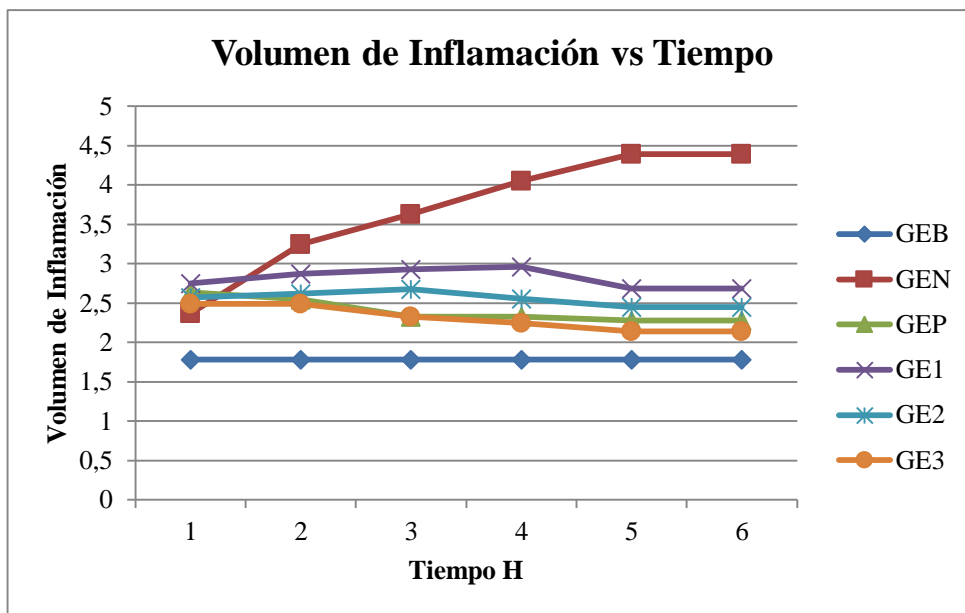


GRÁFICO No. 1 RESULTADO DE VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS VS TIEMPO. DE EXTRACTOS CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2013.

En el gráfico No. 1 se aprecia el volumen de inflamación de los grupos de ensayo, teniendo el valor máximo de inflamación a la quinta hora con un valor de 4,39 cm³ que pertenece al grupo experimental control negativo, el grupo experimental positivo presenta un volumen de inflamación de 2,28 cm³; en cuanto a los grupos experimentales tratados con el extracto etanólico de caña agria a diferentes dosis presentan los siguientes volúmenes de inflamación GE1 (2,96 cm³), GE2 (2,68 cm³), GE3 (2,49cm³), de tal manera que todos los grupos tratados presenta actividad antiinflamatoria en mayor o menor grado.

3.6.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los resultados en primer lugar se procedió a obtener los porcentajes de inhibición y sus respectivos promedios por cada grupo de estudio, los datos se analizaron utilizando el test de ANOVA y de Tukey HSD al 95% de significancia con el objeto de determinar una diferencia significativa con respecto al grupo control ($p < 0,05$), utilizando el programa estadístico SPSS.

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. MAYO 2014.

% DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN					
Tiempo	GEN	GEP	GE1	GE2	GE3
1	0,0±0,0	-11,39±0,03	-16,03±0,03	-8,44±0,03	-5,06±0,03
2	0,0±0,0	21,54±0,17	11,69±0,17	19,38±0,17	23,38±0,17
3	0,0±0,0	35,81±0,16	19,28±0,16	26,17±0,16	35,81±0,16
4	0,0±0,0	42,47±0,18	26,91±0,18	36,79±0,18	44,44±0,18
5	0,0±0,0	48,06±0,20	38,72±0,20	44,19±0,20	51,25±0,20
6	0,0±0,0	48,06±0,15	38,72±0,15	44,19±0,15	51,25±0,15

+ Desviación estándar $p < 0,05$

El cuadro No. 8. Se encuentra el porcentaje de inhibición de los diferentes grupos; en el cual se puede analizar el comportamiento de los grupos tratados con el extracto etanólico de caña agria (*Costus spicatus*) a diferentes concentraciones, comparándolos tanto con el grupo control positivo como con el grupo control negativo.

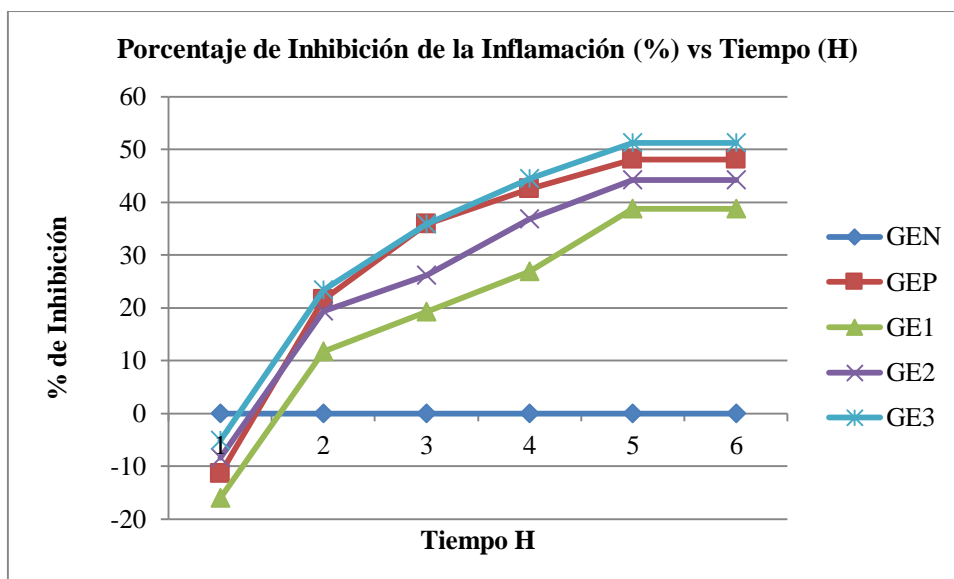


GRÁFICO No. 2 RESULTADOS DEL PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

En el gráfico No. 2 se ilustra el porcentaje de inhibición de los diferentes grupos tratados y su variación con respecto al tiempo.

El porcentaje de inhibición a la primera hora de administración, se puede apreciar que tienen valores negativos en los grupos GEP (-11,39%), GE1 (-16,03%), GE2 (-8,44) y GE3 (-5,06%), que nos indica que aun no existe la acción antiinflamatoria requerida.

A la segunda y tercera hora de administrado los diferentes extractos y el Naproxeno sódico estos empiezan a presentar una disminución de la inflamación.

A la cuarta hora se observa que el grupo tratado con extracto etanólico de caña agria al 80% (GE3) presenta una actividad antiinflamatoria similar al Naproxeno sódico (7mg/kg), en cuanto a los grupos tratados con extracto al 40% (GE2) y extracto al 20% (GE1) presentan menor actividad antiinflamatoria.

A la quinta hora la inhibición de la inflamación alcanza un valor aproximado de 50% en el caso de los grupos tratados con Naproxeno sódico y extracto de caña agria al 80%. Siendo los dos tratamientos con mayor actividad antiinflamatoria. En la sexta hora la los valores de porcentaje de inhibición de la inflamación se mantienen constantes.

```
ONEWAY inhibicion BY tratamiento
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05) .
```

ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

ANOVA de un factor

inhibicion

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4390,619	4	1097,655	2,995	,038
Intra-grupos	9163,446	25	366,538		
Total	13554,065	29			

GRÁFICO No. 3 APLICACIÓN DEL TEST ANOVA (ANÁLISIS DE VARIANZAS) PARA EL ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). ESPOCH. AGOSTO 2014.

En el gráfico No. 3 se aprecia la aplicación del test estadístico ANOVA de un factor a los datos obtenidos del estudio, analizando este gráfico con un nivel de significancia de 0,05 tenemos que $p < 0,05$ con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, resaltando que al menos dos de los tratamiento aplicados en el experimento son diferentes.

Subconjuntos homogéneos

inhibicion

HSD de Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1,00	6	,0000	
3,00	6	18,3817	18,3817
4,00	6	27,0467	27,0467
2,00	6	30,7583	30,7583
5,00	6		33,5117
Sig.		,069	,652

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

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

GRÁFICO No. 4 APLICACIÓN DEL TEST TUKEY PARA EL ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS (HORAS). ESPOCH. AGOSTO 2014.

El gráfico No. 4 muestra el test de Tukey con un nivel de significancia del 95% el cual nos indica que los grupos aleatorios 2 y 5 correspondientes al control positivo tratado con Naproxeno Sódico y al grupo aleatorio tratado con el extracto etanólico de caña agria al 80 % respectivamente presentan mayor porcentaje de inhibición de la inflamación. Seguido por los grupos 3 y 4 correspondientes a los grupos tratados con extractos al 40% y 20% respectivamente.

3.7 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)

Para el análisis de la toxicidad aguda se utiliza un nuevo grupo de ratas a las cuales se les asignó un código individual que permite la identificación correcta para el estudio de los signos a evaluar.

Donde:

ET-B = Blanco ensayo de toxicidad aguda.

ET-R1 = Ensayo de toxicidad aguda rata 1.

ET-R2 = Ensayo de toxicidad aguda rata 2.

ET-R3 = Ensayo de toxicidad aguda rata 3.

ET-R4 = Ensayo de toxicidad aguda rata 4.

El total de animales utilizados para este ensayo fueron cinco ratas (*Rattus norvegicus*) el tiempo de investigación fue de 14 días, con aplicación de la norma OCDE 423.

CUADRO No. 9 ANÁLISIS DE LOS SIGNOS EN LOS PRIMEROS 7 DÍAS. EN RATAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. JUNIO 2014.

SIGNOS DE TOXICIDAD	ET-R1	ET.R2	ET-R3	ET-R4
	DÍAS	DÍAS	DÍAS	DÍAS
	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	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5
Grito	1 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0
Irritabilidad	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0
Respuesta al toque	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5
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
Contorsiones	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
Patas 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	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5
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
Lagrимación	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	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5
Defecación	1 1 0 0 0 0 0	1 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 1 0	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
Números de muertos	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

En el cuadro No. 9 se describe los signos analizados durante los 14 días que duró el ensayo para determinar la presencia de toxicidad aguda. Una vez transcurrido el tiempo de ensayo se denotó que no hubo connotación en los parámetros de evaluación. No se reportan datos del blanco ya que no existe ninguna modificación.

La dosis letal DL₅₀ no puede ser calculado ya que durante el periodo de ensayo no hubo muerte de ningún animal.

Conr los resultados obtenidos se puede decir que el extracto etanólico de caña agria (*Costus spicatus*) utilizado, no posee ningún efecto toxico a la dosis administrada.

3.8 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO EN RATAS (*Rattus norvegicus*)

Para asegurar la ausencia de toxicidad del extracto se realizaron cortes histopatológicos de los principales órganos farmacocinéticos estómago , hígado y riñones después de los 14 días de administración consecutiva de la dosis más alta, se prepararon placas con las muestras de tejidos para poder obsérvalos al microscopio y determinar así el daño ocasionado por la dosis administrada.

CUADRO No. 10 PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE BIOPSIAS DE RATAS (*Rattus norvegicus*) A LAS QUE SE LES ADMINISTRÓ EXTRACTO ETANÓLICO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*) PARA EL ANÁLISIS DE EFECTO TÓXICO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

CÓDIGO	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
ET-B	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2,9 g Largo: 3,2 cm Ancho: 1,5 cm Profundidad: 0,6 cm	Mucosa gástrica conservada, con vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.
	Riñón Color: Rojo vino Peso: 1,4 g Largo: 1,8 cm Ancho: 1,2 cm Profundidad: 0,6 cm	Glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.

	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 11,3 g Largo: 5,7 cm Ancho: 4,0 cm Profundidad: 0,7 cm	Lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
ET-R1	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2,6 g Largo: 2,0 cm Ancho: 1,2 cm Profundidad: 0,6 cm	Mucosa gástrica conservada, vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.
	Riñón Color: Rojo vino Peso: 1,5 g Largo: 2,1 cm Ancho: 1,2 cm Profundidad: 0,5 cm	Glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.
	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 12,5 g Largo: 5,2 cm Ancho: 3,9 cm Profundidad: 0,5 cm	Lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
ET-R2	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2,5 g Largo: 2,2 cm Ancho: 1,1 cm Profundidad: 0,6 cm	Mucosa gástrica conservada, vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.
	Riñón Color: Rojo vino Peso: 1,4 g Largo: 2,1 cm Ancho: 1,2 cm Profundidad: 0,5 cm	Glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.
	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 12,7 g Largo: 5,5 cm Ancho: 4,7 cm Profundidad: 0,7	Lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
ET-R3	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 3,0 g Largo: 2,8 cm Ancho: 0,7 cm Profundidad: 0,5 cm	Mucosa gástrica conservada, vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.

	Riñón Color: Rojo vino Peso: 1,5 g Largo: 2,3 cm Ancho: 1,2 cm Profundidad: 0,5 cm	Glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.
	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 13,1 Largo: 5,6 Ancho: 4,5 Profundidad: 0,6	Lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
ET-R4	Estómago Color: Mucosa color rosa pálido Peso: 2,8 g Largo: 2,6 cm Ancho: 1,1 cm Profundidad: 0,6 cm	Mucosa gástrica conservada, vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.
	Riñón Color: Rojo vino Peso: 1,4 g Largo: 2,1 cm Ancho: 1,1 cm Profundidad: 0,5 cm	Glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.
	Hígado Color: Rojo oscuro Peso: 12,3 g Largo: 5,6 cm Ancho: 3,9 cm Profundidad: 0,6 cm	Lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.

En el cuadro No. 10 se aprecia los resultados obtenidos del análisis macroscópico y microscópico que se realizó a los principales órganos farmacocinéticos de los animales de experimentación para determinar la toxicidad aguda del extracto de Caña Agria (*Costus spicatus*).

Dentro de las características macroscópicas analizadas se observó el color, peso, largo, ancho y profundidad de los distintos órganos, encontrándose que estos no han sufrido ningún daño y se encuentran dentro de los rangos normales.

En cuanto al examen microscópico del estómago presentó una mucosa gástrica conservada, vasos de calibre normal. No se observa lesiones focales ni erosivas.

El hígado presentó lobulillos hepáticos de distribución y arquitectura normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.

Los riñones presentaron glomérulos con integridad del epitelio, túbulos de calibre contenido normal.

Con los resultados obtenidos del análisis tanto macroscópico como microscópico de los órganos estómago, hígado y riñones no se encontró ninguna anomalía o cambio en su estructura histológica por lo tanto el extracto de Caña Agria (*Costus spicatus*) en dosis de 80% de dilución del extracto madre no es tóxico.

CAPITULO IV

4 CONCLUSIONES

1. Se desarrolló el estudio de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de caña agria (*Costus spicatus*) a dosis de 20 %, 40 % y 80%, mediante la inducción de edema plantar por carragenina al 0,05% en ratas (*Rattus norvegicus*), al realizar el análisis de las medias mediante el test ANOVA, se evidenció que hay una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y el grupo control.
2. En la investigación se evaluó la calidad de la droga cruda y del extracto a administrar, se puede afirmar que cumplen con las especificaciones establecidas en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos y Normas Ramales, mediante el tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la caña agria (*Costus spicatus*) se comprobó la presencia de varios metabolitos secundarios como: flavonoides, quinonas, triterpenos, alcaloides, azúcares reductores, lactonas, fenoles, taninos, cumarinas; que están presentes en la droga cruda, siendo los de mayor importancia para esta investigación los flavonoides, además se evidenció la presencia de flavonoides en el extracto etanólico, mediante la cuantificación espectrofotométrica a razón de 1,8mg de catequina/gramo de muestra, siendo factible el desarrollo del estudio.
3. Al finalizar la investigación se concluye que los grupos tratados con extracto etanólico de caña agria (*Costus spicatus*) a diferentes dosis fueron comparados con un grupo control positivo, al que se administró Naproxeno Sódico, presentando actividad antiinflamatoria el extracto etanólico al 80%, similar al medicamento utilizado como control positivo.

4. Mediante el estudio de toxicidad aguda realizado con el extracto de caña agria (*Costus spicatus*) a la dosis máxima de 80% se comprobó que no existió connotación en los parámetros de evaluación, apoyándose esta teoría con el análisis macroscópico y microscópico de los principales órganos farmacocinéticos hígado, estómago y riñon los cuales no evidencian cambios a nivel tisular, por lo que se establece que la dosis es segura.

CAPITULO V

5 RECOMENDACIONES

La planta al contener gran cantidad de metabolitos se recomienda realizar un aislamiento y elucidación de los compuestos y realizar más estudios sobre el vegetal ya que también se le atribuye la propiedad diurética.

Realizar estudios de toxicidad con dosis mayores con la finalidad de establecer el DL₅₀.

Continuar con el estudio de plantas medicinales utilizadas por la sociedad Ecuatoriana en busca de productos funcionales y efectivos que causen el menor efecto toxico posible dentro del organismo.

Establecer una dosis específica para la elaboración de un fitomedicamento a partir de este vegetal, que garantice su utilización en procesos inflamatorios.

BIBLIOGRAFÍA

ACUTE SYSTEMIC TOXICITY. BOTHAM, P. A. 2003

[http://www.unc.edu/courses/2006spring/envr/132/001/Botham 2004](http://www.unc.edu/courses/2006spring/envr/132/001/Botham%202004)
2014/06-26

AMAGUAYO, Samanta. Elaboración de tabletas adelgazantes a partir de tres plantas existentes en la Provincia de Chimborazo a escala piloto. (Tesis). (Bioq. Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba. Riobamba-Ecuador. 2013., Pp. 65-71

ARIAS, Jaime. et al. Propedéutica Quirúrgica, Madrid-España. Tébar. 2004, Pp. 601-610

ARMITAGE, David. “*Rattus norvegicus*”. (Animal Diversity Web). Vol. 1, No. 1. Estados Unidos. Pp. 1-7, Octubre 2004

ARRONDO, Amaya. et al. Farmacología de urgencias, Navarra-España. Elsevier. 2001, Pp. 1-6

BELLUCI, Sebastián. et al. La Ciencia y la Practica de la Farmacia. 20a ed. Philadelphia-Estados Unidos. Médica Panamericana. 2003, Pp. 1198

BERRÓN, Renato. El Sistema de Complemento. (Asma e Inmunología Pediátrica). Vol. 12, No. 2. México. Pp. 46-48, Agosto 2003

BIOLOGÍA GENERAL DEL REACTIVO BIOLÓGICO. SALVADOR, Nieves.

2012

<https://es.scribd.com/doc/86832705/manejo-de-animales>

2014/06-25

BORDÉS, R. et al. El Proceso Inflamatorio. (UCLM). Vol. 3 N°204. España. Pp. 1-3,

Febrero 2010

CARRAGENINA APLICACIONES. BADUI, Salvador. et al. 2013

http://www.hablemosclaro.org/ingrepedia/carragenina.aspx#.U8_t1biHews

2014/07-24

CARRAGENINAS Y LÁCTEOS. Alimentariaonline. 2013

<http://alimentariaonline.com/2013/05/10/carrageninas-lacteos/>

2014/06-17

CARRASCO, Sol. et al. Tratado de Emergencias Médicas, Madrid-España. Arán

Ediciones. 2000, Pp. 1338-1341

CASTAÑEDA, C.B. et al. Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación. (Horizonte Médico). Vol.2, No. 1. Perú. Pp. 15, 2002

CHIRIBOGA, David. et al. Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos. 8a ed. Quito-

Ecuador. Publiasesores. 2011, Pp. 21-25

CININAS. Sanmartín Francisco. 2010

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

2014/07-28

CÓRDOBA, José. Propuesta para la Enseñanza de la Estadística en el Grado Décimo Trabajado por Proyectos. (Tesis). (Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Maestría en enseñanza de las Ciencias Exactas y Naturales. Bogotá-Colombia. 2012, Pp. 36-50

DÍAZ, Alonso. et al. Inmunología, Córdoba-España. Alta plataforma. 2003, Pp. Cap 25, Cap 1

DOMINIAK, P. et al. Pharmacology and Cardiovascular Implications of the Kinin-Kallikrein System. (Revista NCBI). Vol. 4, No. 26. Estados Unidos. Pp. 1, Abril 1999

DOSIS LETAL 50. Anima Naturalis. 2000
http://www.animanaturalis.org/p/1361/dosis_letal_50_DL50
2014/06-30

DUCE, Antonio. Patología Quirúrgica, Madrid-España. GEA Consultoría. 2005, Pp. 53-55

DURÁN, Márius. et al. Farmacología para Fisioterapeutas, Madrid-España. Médica Panamericana. 2008, Pp. 90-92

EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO. IÁÑEZ, Enrique. 1999
http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_16.htm
2014/06-17

ESPESANTES. Gremount Internacional Sociedad Limitada. 2009
<http://www.gremount.com.cn/spain/detail.asp?id=1885&Channel=2&ClassID=3>
2014/06-30

ETNOFARMACOLOGÍA. CASINO, Gonzalo. 1995

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

2014/07-20

FAJARDO, Daniel. et al. Farmacología de los Antiinflamatorios no Esteriodeos (AINEs). Elsevier. 2007, Pp. 1-11

FERNÁNDEZ, Lorenzo. et al. Farmacología Básica y Clínica. 18a ed. Madrid-España. Médica Panamericana. 2008, Pp. 510, 516, 517, 527

FITOTERAPIA. MURAD, Silvina. 2014

<http://www.zonadiet.com/salud/fitoterapia.htm>

2014/11-17

FONNEGRA, Ramiro., JIMÉNEZ, Silvia. Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia. 2a ed. Medellín-Colombia. Universidad de Antioquia. 2007, Pp. 69,70

GARCÍA, José. et al. Técnico Especialista en Anatomía Patológica, Sevilla-España. MAD. 2006, Pp. 43-47

GARCÍA, Pedro. Inflamación. (Real Academia de Ciencias Exactas). Vol. 102, No. 1. España. Pp. 91-97, 102-105, Enero 2008

GENNARO, Alfonso. et al. Remington Farmacia. 20a ed. Montevideo- Uruguay. Médica Panamericana. 2003, Pp. 1735, 1198

GÓMEZ, Harold. et al. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. (Red de Revistas Científicas de América Latina). Vol. 10, No. 3. Chile. Pp. 186-191, Mayo 2011

GÓMEZ, Milton. et al. Citotoxicidad y actividad anticancerígena de dos flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza* Brenth. (Vitae). Vol. 16, No. 1. Colombia. Pp. 6, Abril 2009

GONZÁLEZ, María. et al. Actividad Antiinflamatoria de Extractos Y Fracciones de *Myrcianthes leucoxila*, *Calea prunifolia*, *Curatella americana* Y *Physalis peruviana* en los Modelos Edema Auricular por TPA, Edema Plantar por Carragenina y Artritis Inducida Por Colágeno. (Biosalud). Vol. 10, N° 1. Colombia. Pp. 1-15, Abril 2011

GONZÁLEZ, R. et al. El Proceso Inflamatorio. (ULCM). Vol. 10, No. 204. España. Pp. 4, Febrero 2010

GUILLÉN, Paula. Y otros. Conocimientos y prácticas del uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en adultos mayores del centro gerontológico del IESS. Cuenca 2013-2014. (Tesis). (Médico). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina. Cuenca- Ecuador. 2014. Pp, 14-16

HERNANDEZ, Luis. Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la Empresa Apicare, Riobamba-Chimborazo. (Tesis) (Bioq Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, Pp. 68-70

HISTAMINA. Fundación Pública Andaluza. 2007

<http://medmol.es/glosario/39/>

2014/04-20

HORTON, D. Lo Esencial en Farmacología, 4a ed. Barcelona - España. Elsevier Health Sciences. 2013, Pp. 150– 154

INFANTE, Vanessa. et al. Fisiopatología de la Inflamación. (Scribd). Vol. 10, No. 4. República Dominicana. Pp. 1-6, Junio 2011

INFLAMACIÓN. Magenta Susana. 2008

http://es.slideshare.net/magenta_psicodelica/inflamacion

2014/06-26

INGRAHAM, John. INGRAHAM, Catherine. Introducción a la Microbiología, Barcelona-España. Reverté. 1998, Pp. 379-383

KLAJN, Diana. BOXACA, Martha. Diccionario Enciclopédico de Enfermería. 5a ed. Buenos Aires-Argentina. Médica Panamericana. 1996, Pp. 686-687

LAS RATAS. RASGA, Richard. 2009

<http://www.minifauna.com/2009/07/page/2/>

2014/07-11

LEUCOTRIENO C4. Fundación Pública Andaluza. 2007

<http://medmol.es/glosario/74/>

2014/04-22

LORENZO. P. Y OTROS., Farmacología Básica y Clínica., 18ª ed., Madrid. España., Médica Panamericana. 2009, P.p. 510, 516, 517

MARTÍNEZ, Fernando. et al. Auxiliares Sanitarios, Madrid-España. 2006, Pp. 264, 265

MECANISMOS DE ENFERMEDAD Y DE REACCIÓN DEL ORGANISMO.

PEPPER, Inés. 2005

<file:///C:/Users/pc/Downloads/1036570497.inflamacion.pdf>

2014/07-30

MEDICAMENTOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES).

MORENO, José. 2013

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

2014/05-21

MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA. CÁCERES, Alberto. 2009

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7037>

2014/05-25

MENDOZA, Nicandro. Farmacología Médica, Chapultepec-México. Panamericana. 2008, Pp. 295,296

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

MONTERO, Teresita. et al. Daño Múltiple de Órganos: Morfología de la Respuesta Inflamatoria Sistémica. (Revista Cubana de Medica Militar). Vol. 30, No. 5. Cuba. Pp. 79-83, Marzo 2001

MUÑOZ, Marisol. Evaluación de la actividad antiinflamatorio de extractos de Santa María (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2014, Pp. 11-16

NOVENA REVISIÓN DEL CUADRO NACIONAL DE MEDICAMENTOS BÁSICOS. Ministerio de Salud Pública Ecuador. 2013

http://www.lahora.com.ec/frontEnd/images/objetos/Registro_oficial_CNMB_9na_revisio
n.html

2014/05-26

OCAMPO, Zuleima., NAVARRETE, Ana. Usos Medicinales de la Caña Agria. (Tlahui-Medic). Vol. 25, No. 31. México. Pp. 1,2, Enero 2011

ORTIZ, Alberto. et al. Estudio sobre el Contenido en Flavonoides de las Mieles de la Alcarria. Castilla-España. CSIC. 1994, Pp. 9-12

PALOMINO, L. y otros. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). (VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica). Vol. 16, No. 3. Colombia. Pp. 1-8, Septiembre 2009

PARRIS, WC., SMITH, HS. Tratamiento del dolor. (Alternative Pain Medicine). Vol. 3, No. 2. Argentina. Pp. 1-6, 2003

PÉREZ, Andrés. Biosíntesis de los Productos del Ácido Araquidónico y su Percusión en la Inflamación. (Sociedad Española del dolor). Vol. 35, No. 2. La Habana-Cuba. Pp. 1-3, Febrero 1998

PRIMO, Eduardo. Química Orgánica y Aplicada, Barcelona-España. Reverté. 1995, Pp. 915-917.

QUERCETINA. Labosalud. 2012

<http://www.labosalud.com/suplemento-antioxidante/Quercetin.asp>

2014/06-24

RATTUS NORVEGICUS. ÁLVAREZ, Jorge. et al. 2005

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

1

2014/07-23

RIOFRÍO, Katty. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de Taxo (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioq Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2014, Pp. 27-29

RIVEROS, Luis. Efectos Biológicos de Metabolitos Prostaglandínicos Endógenos. (Revista Medicina Veterinaria). Vol. 13, No. 2. Chile. Pp. 1, Diciembre 1991

ROBBINS, Fausto. Pathologic Basic of Disease, Estados Unidos-Philadelphia. Elsevier. 2009, Pp. 204

ROBBINS, Stanley. et al. Patología Humana. 7a ed. Madrid-España. GEA Consultoría. 2006, Pp. 33-45

SOLÍS, Inelia. Estudio Comparativo de las Propiedades Finales de Extractos de Carragenina K-I/K-II Utilizando Distintas Algas Productoras de Carragenina K-II. (Tesis). (Ing-Alim). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos. Valdivia-Chile. 2007, Pp. 2-4

TIPOS DE PLANTAS MEDICINALES ANTIINFLAMATORIOS. LORETO, Elisabet. 2014

<http://salud.uncomo.com/video/cuales-son-los-tipos-de-plantas-medicinales-antiinflamatorias-18161.html#ixzz37rXv3X49>

2014/06-27

TORRES, Fausto. Biodisponibilidad y Bioequivalencia Requisitos Para Genéricos. (Revista de la Facultad de Ciencias). Vol. 5, No. 5. Ecuador. Pp. 107-109, 2005

TORRES, Luis. et al. Tratado de Anestesia y Reanimación, Madrid-España. Arán Ediciones. 2001, Pp. 806-807

URIBE, Ricardo. BESTENE, Jaime. Prácticas y Procedimientos. Guías de Práctica Clínica, Bogotá-Colombia. Médicas Latinoamericanas. 2004, Pp. 136-139

VALLEJO, José. et al. Las Plantas Medicinales en la Cultura Guadianera Frente a las Medicinas Tradicionales y la Fitoterapia Oficial, San Vicente-España. Club Universitario. 2009, Pp. 80

VALORIA, José María. et al. Cirugía Pediátrica, Madrid-España. Díaz de Santos S. A. 1994, Pp. 67-68

VEGA, Elmo. Apuntes sobre Cría, Manejo, Patología y Uso de los Animales de Laboratorio, Caracas-Venezuela. IICA. 1988, Pp. 15-21



CAPÍTULO VI

6 ANEXOS

ANEXO No. 1 MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA No. 1 MATERIAS PRIMA FRESCA DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)



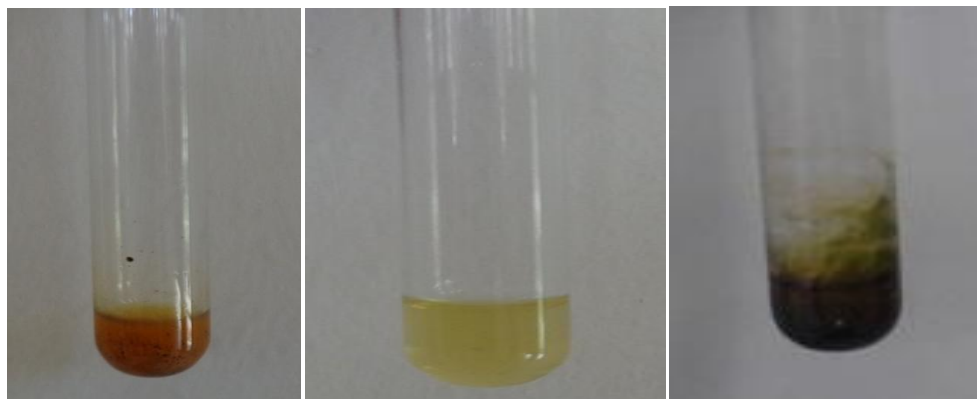
FOTOGRAFÍA No. 2 MATERIA PRIMA SECA Y TRITURADA DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)

ANEXO No. 2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON DIFERENTES SOLVENTES

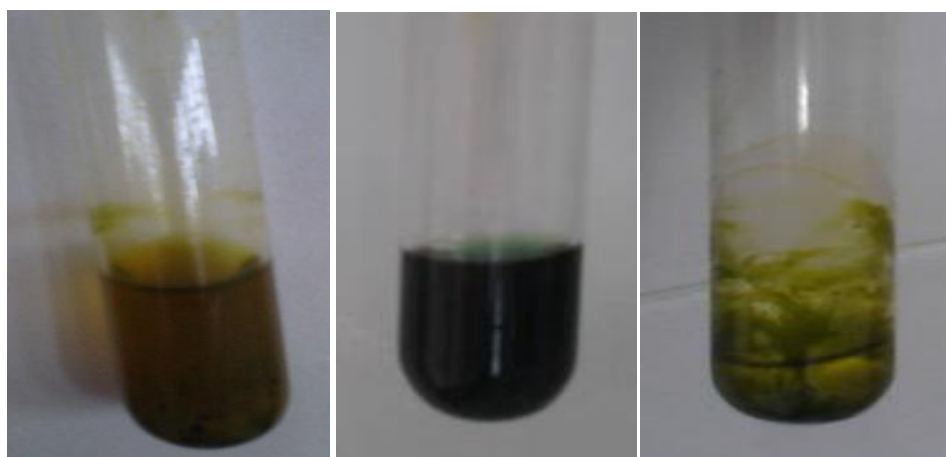


FOTOGRAFÍA No. 3 FILTRACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE EXTRACTO DE CAÑA AGRIA PARA TAMIZAJE

ANEXO No. 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE EXTRACTO ETÉREO

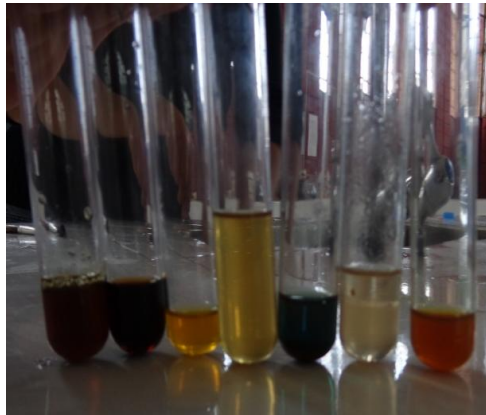


FOTOGRAFÍA No. 4 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS WAGNER, MAYER, SUDAN III

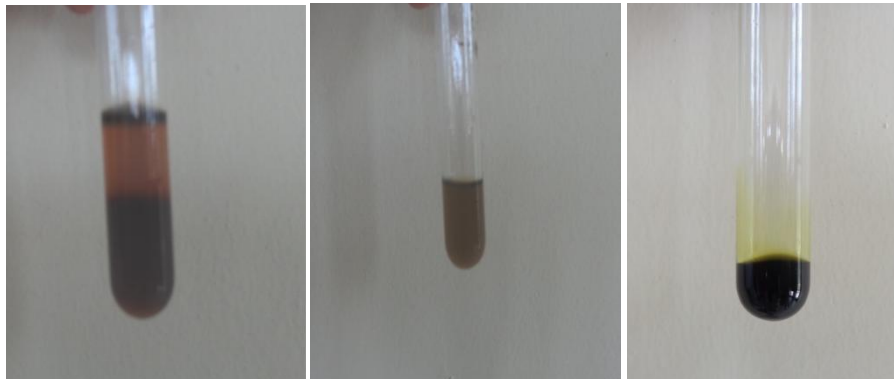


FOTOGRAFÍA No. 5 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS BALJET, LIEBERMAN-BUCHARD, DRAGENDORFF

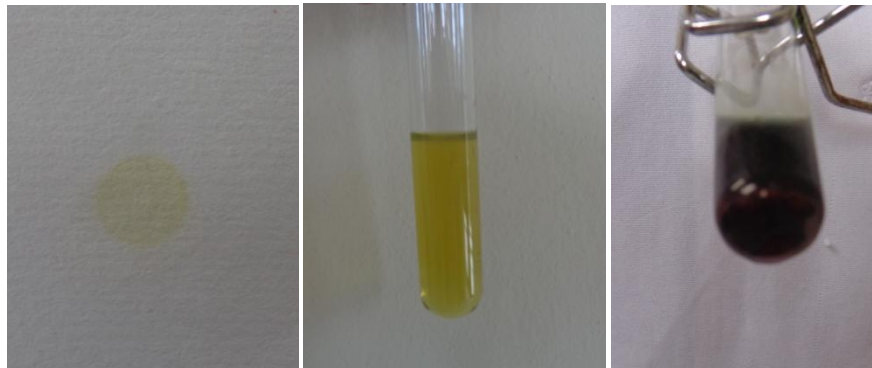
ANEXO No. 4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE EXTRACTO ALCOHÓLICO



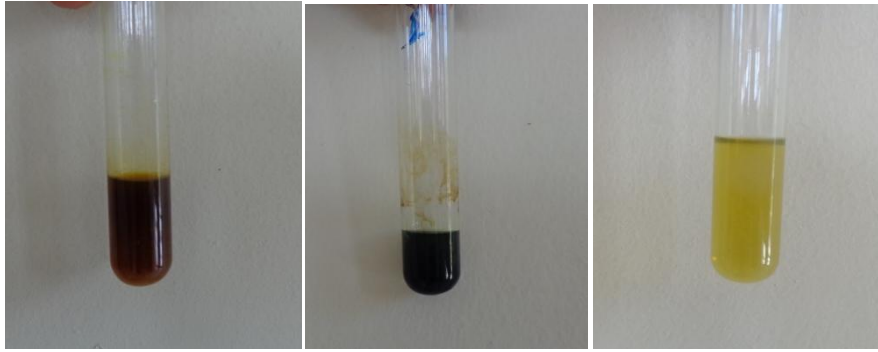
FOTOGRAFÍA No. 6 REACCIONES DE COLORACIÓN Y PRECIPITACIÓN



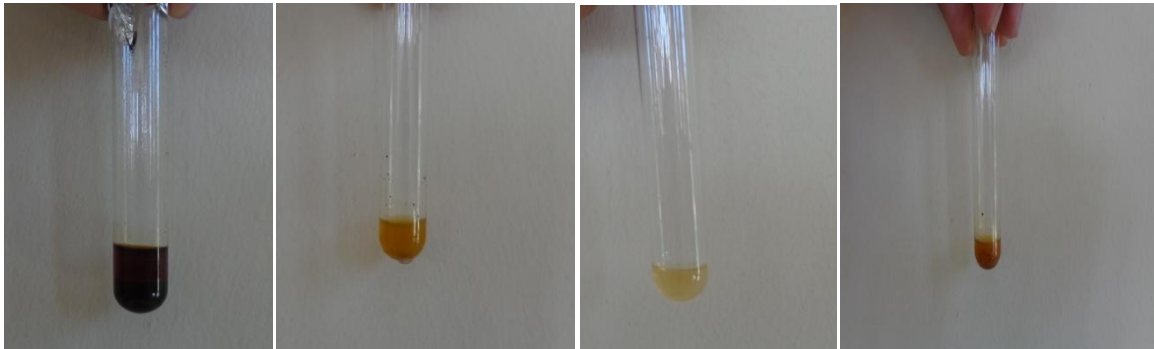
FOTOGRAFÍA No. 7 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS ANTOCIANIDINAS, SHINODA, CLORURO FÉRRICO



FOTOGRAFÍA No. 8 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CATEQUINAS, RESINAS, FEHLING

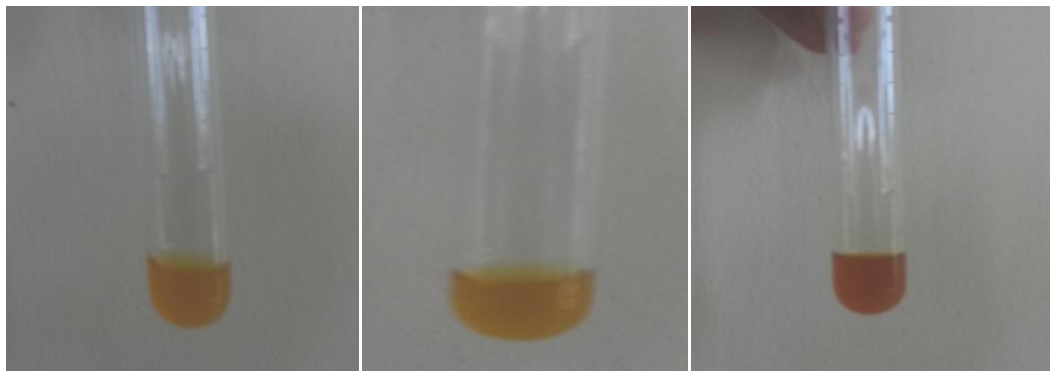


FOTOGRAFÍA No. 9 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS BALJET, LIEBERMAN-BUCHARD, SAPONINAS.

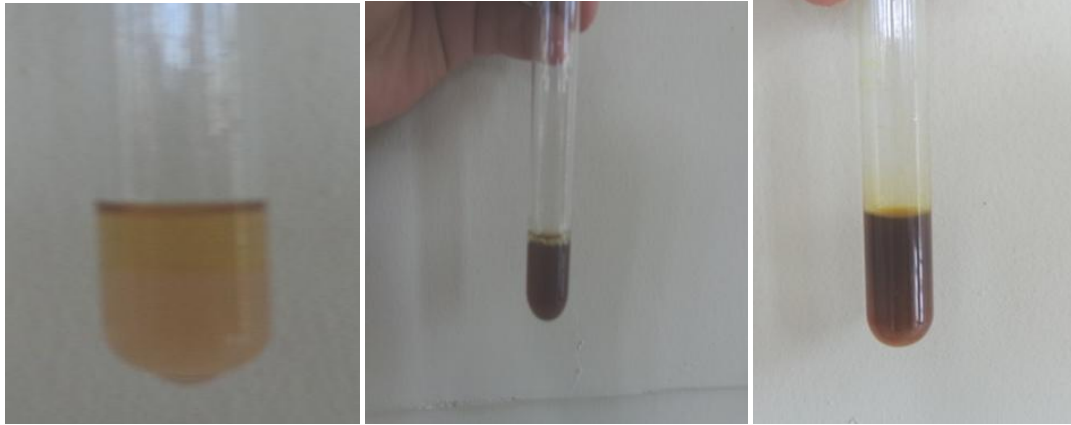


FOTOGRAFÍA No. 10 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS QUINONAS, DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER.

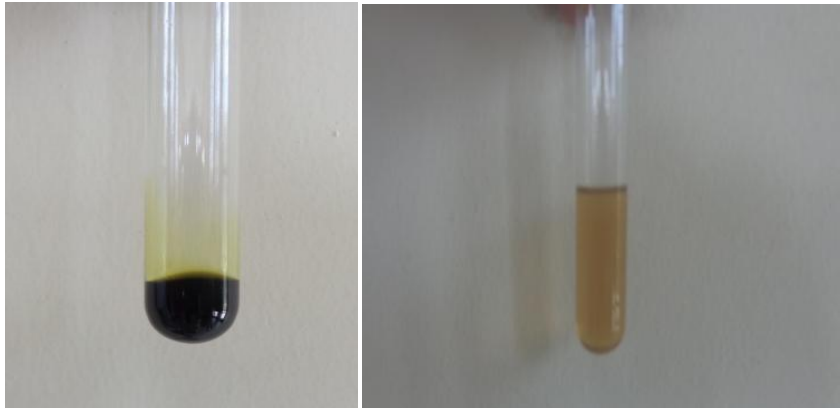
ANEXO No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE EXTRACTO ACUOSO



FOTOGRAFÍA No. 11 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER.



FOTOGRAFÍA No. 12 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS SHINODA, FEHLING, BALJET, CLORURO FÉRRICO.



FOTOGRAFÍA No. 13 ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CLORURO FÉRRICO, SAPONINAS.

ANEXO No. 6 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)



FOTOGRAFÍA No. 14 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO: SÓLIDOS TOTALES, pH, DENSIDAD

ANEXO No. 7 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES



FOTOGRAFÍA No. 15 REACTIVOS Y MATERIALES UTILIZADOS EN LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

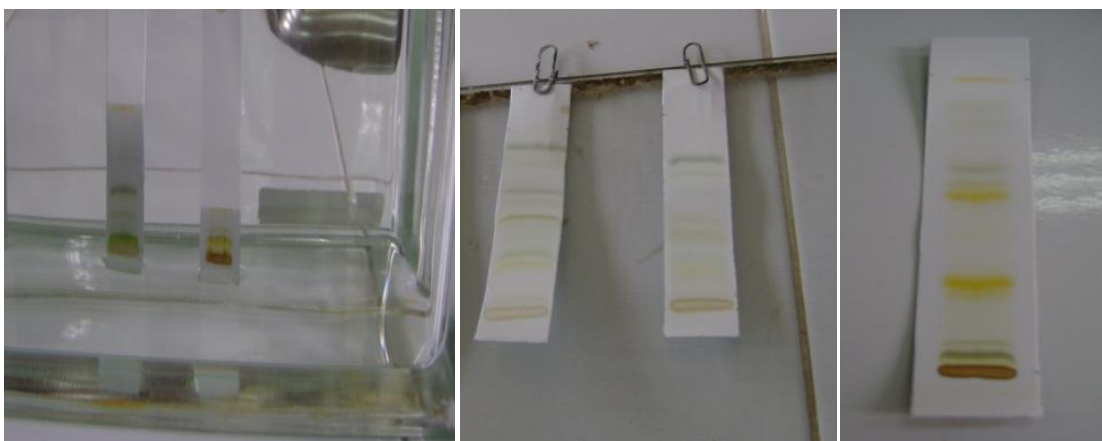


FOTOGRAFÍA No. 16 ESPECTROFOTOMETRO UTILIZADO PARA LA CUANTIFICACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 17 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

ANEXO No. 8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA No. 18 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA PARA FLAVONOIDES

ANEXO No. 9 CURVA DE CALIBRACIÓN DE CATEQUINA USADO COMO PATRÓN EN LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

CUADRO No. 11 CURVA DE CALIBRACIÓN DE CATEQUINA USADO COMO PATRÓN EN LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIAS (510 nm)
20	0,222
40	0,435
60	0,647
80	0,860
100	1,073

FUENTE: CHIMBO. M 2014

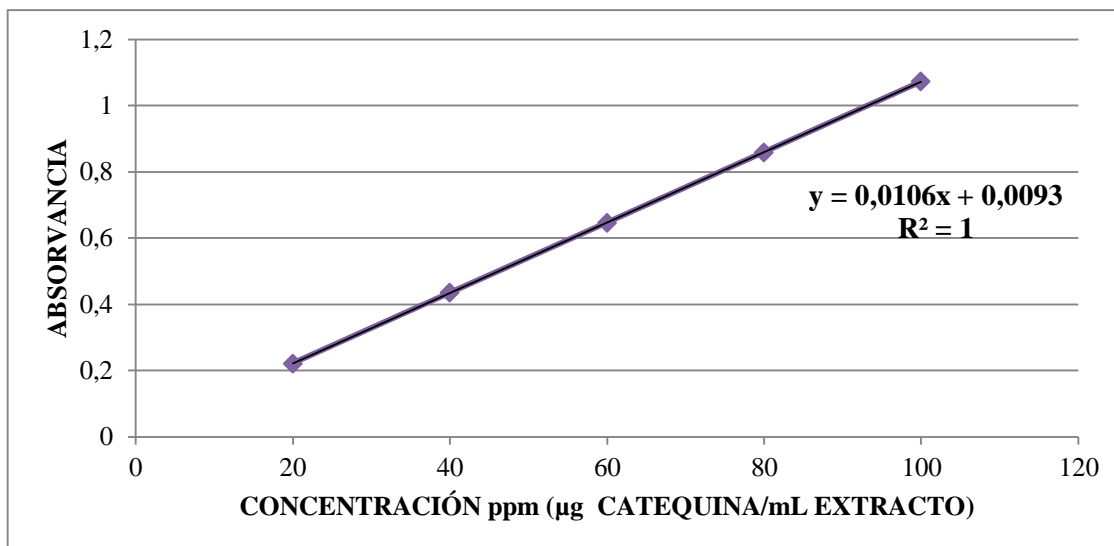


GRÁFICO No. 5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES. CURVA ABSORVANCIA VS. CONCENTRACIÓN DE CATEQUINA A CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.

ANEXO No. 10 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD



FOTOGRAFÍA No. 19 OBTENCIÓN DE EXTRACTO MADRE



FOTOGRAFIA No. 20 DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL EXTRACTO MADRE A DIFERENTES CONCENTRACIONES

ANEXO No. 11 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)



FOTOGRAFÍA No. 21 DISTRIBUCIÓN ALEATORIA Y ACONDICIONAMIENTO DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 22 PESOS DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



FOTOGRAFÍA No. 23 MATERIALES PARA EL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 24 ADMINISTRACIÓN DE CARRAGENINA



FOTOGRAFIA No. 25 ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTOS



FOTOGRAFÍA No. 26 FORMACIÓN DE EDEMA PLANTAR



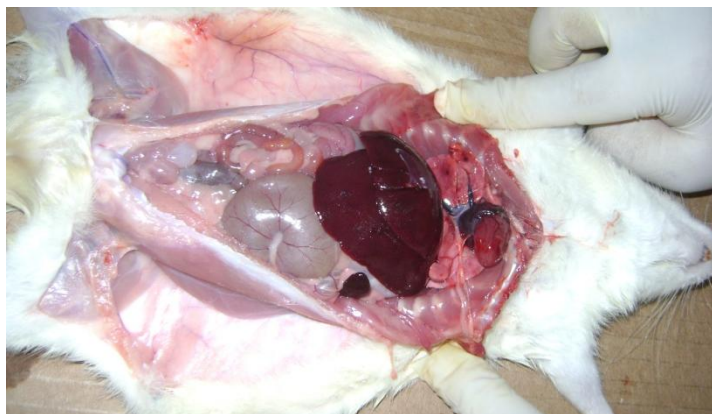
FOTOGRAFÍA No. 27 MEDICIÓN DE VOLUMEN DE INFLAMACIÓN

ANEXO No. 12 EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.

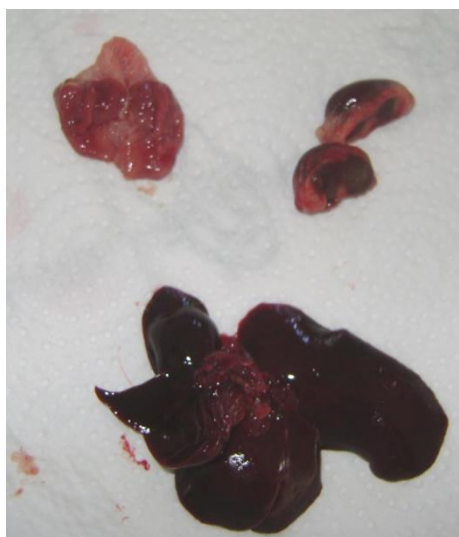


FOTOGRAFIA No. 28 DISECCIÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)

ANEXO No. 13 ANÁLISIS MACROSCÓPICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.



FOTOGRAFIA No. 29 EXTRACCIÓN DE LOS ÓRGANOS A INVESTIGAR



FOTOGRAFÍA No. 30 ÓRGANOS EXTRAÍDOS ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES PARA ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO.

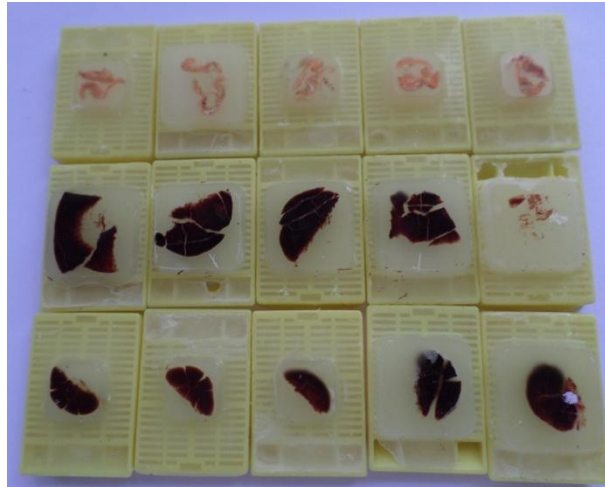


FOTOGRAFÍA No. 31 TOMA DE PESOS DE LOS DISTINTOS ÓRGANOS



FOTOGRAFÍA No. 32 CONSERVACIÓN DE ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE RATAS (*Rattus norvegicus*) EN FORMOL AL 10 %

ANEXO No. 14 EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO DE ESTÓMAGO, HÍGADO, RIÑÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN RATAS (*Rattus norvegicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO DR. OSWALDO DUQUE ANDRADE.



FOTOGRAFÍA No. 33 CORTES HISTOLÓGICOS DE ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA No. 34 FIJACIÓN DE PLACAS DE ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN DE RATAS (*Rattus norvegicus*) PARA EXÁMEN HISTOPATOLÓGICO