



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
DE LA PLANTA *Salvia quitensis* MEDIANTE INHIBICIÓN DE  
EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATAS  
*Rattus norvegicus*”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: PRISCILA ANABEL RUGEL GARCES**

**TUTORA: DRA. SUSANA ABDO LÓPEZ**

Riobamba-Ecuador

2017

**©2017, Priscila Anabel Rugel Garces**

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

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA PLANTA *Salvia quitensis* MEDIANTE INHIBICIÓN DE EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATAS *Rattus norvegicus*” de responsabilidad de la señorita egresada Priscila Anabel Rugel Garces, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana Abdo López

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTORA DE TRABAJO**

**DE TITULACIÓN**

BQF. Diego Vinueza Tapia., M.Sc.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Yo, Priscila Anabel Rugel Garces, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación

Riobamba, 18 de abril de 2017.

---

**PRISCILA ANABEL RUGEL GARCES**  
**180425255-7**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de titulación se lo dedico a Dios por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este punto, por guiarme por el buen camino, darme salud y fuerzas para lograr mis objetivos y salir adelante superando todos los obstáculos que se presentaron durante el transcurso de mi carrera.

A mi madre Nancy que es el pilar fundamental en mi vida, sin su apoyo incondicional nunca hubiese llegado hasta donde estoy hoy, gracias por sus consejos, sus valores, su perseverancia por no dejarme caer ni rendirme en los momentos más difíciles de mi vida, pero sobre todo gracias por su infinito amor. Este triunfo es tuyo mami.

A mi padre Guillermo que a pesar de la distancia siempre me ha brindado todo su apoyo y cariño con el fin de que yo cumpla mi meta. Gracias papi por el enorme sacrificio que haces por nosotros, por esas palabras de aliento para luchar en la vida y poder salir adelante.

A mis hermanos Alex, Nicole y Dennis por estar siempre presentes, acompañándome en los buenos y malos momentos de mi vida.

A mis abuelitos que son como mis padres, gracias por cuidarme, consentirme y apoyarme siempre.

A mis tíos que de una u otra manera siempre estuvieron apoyándome durante toda mi formación académica, brindándome sus consejos y cariño, especialmente a mi tía Maritza que a pesar de la distancia siempre estuvo ahí pendiente de mí, alentándome y brindándome todo su apoyo.

A mis amigas que gracias al equipo que formamos logramos llegar hasta el final del camino para cumplir nuestro gran objetivo con mucho esfuerzo y perseverancia, entre risas, bromas y enojos lo logramos.

Anabel

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser ente institucional de sabiduría y formación profesional y por permitirme utilizar las instalaciones durante el desarrollo de mi investigación.

A mi tutora de tesis, Dra. Susana Abdo por el apoyo, el asesoramiento, su experiencia, motivación y el conocimiento brindado durante la ejecución del presente trabajo.

De igual manera agradecer al BQF. Diego Vinueza por sus conocimientos y ayuda brindada durante la investigación.

A todas las personas que han formado parte de mi vida profesional y que de una u otra forma contribuyeron con la realización de este trabajo de titulación

Anabel

## TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE TABLAS.....	x
INDICE DE FIGURAS.....	xi
INDICE DE GRÁFICOS.....	xii
INDICE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPITULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Actividad antiinflamatoria .....</b>	<b>4</b>
<i>1.1.1 Inflamación .....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2 Finalidad de la inflamación.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.3 Componentes de la reacción inflamatoria.....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.4 Factores causales .....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.5 Manifestación de la reacción inflamatoria .....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.6 Tipos de inflamación.....</i>	<i>7</i>
<i>1.1.7 Mediadores de la inflamación.....</i>	<i>10</i>
<b>1.2 Antiinflamatorios .....</b>	<b>12</b>
<i>1.2.1 Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) .....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.2 Mecanismos de acción .....</i>	<i>13</i>
<i>1.2.3 Reacciones adversas más frecuentes .....</i>	<i>14</i>
<b>1.3 Diclofenaco sódico .....</b>	<b>14</b>
<i>1.3.1 Efecto terapéutico.....</i>	<i>15</i>
<i>1.3.2 Mecanismo de acción .....</i>	<i>15</i>
<i>1.3.3 Posología .....</i>	<i>16</i>
<i>1.3.4 Reacciones secundarias y adversas .....</i>	<i>16</i>
<b>1.3 Biodiversidad en el Ecuador .....</b>	<b>17</b>

<b>1.4 Fitoterapia.....</b>	<b>18</b>
<b>1.5 Familia Lamiaceae .....</b>	<b>19</b>
<b>1.6 Género <i>Salvia</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>1.7 <i>Salvia quitensis</i> .....</b>	<b>24</b>
<b>CAPITULO II</b>	
<b>2. MARCO METODOLOGICO.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Lugar de la Investigación .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2 Recolección del material vegetal .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3 Reactivo Biológico .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.1 Descripción .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.2 Condiciones ambientales.....</b>	<b>26</b>
<b>2.4 Materiales, equipos y reactivos .....</b>	<b>27</b>
<b>2.5 Técnicas y Métodos .....</b>	<b>30</b>
<b>2.5.1 Comprobación Taxonómica.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5.2 Acondicionamiento del material vegetal .....</b>	<b>30</b>
<b>2.5.3 Control de Calidad de la materia prima .....</b>	<b>30</b>
<b>2.5.4 Obtención del extracto alcohólico .....</b>	<b>32</b>
<b>2.5.5 Tamizaje fitoquímico .....</b>	<b>33</b>
<b>2.5.6 Control de calidad del extracto alcohólico .....</b>	<b>33</b>
<b>2.5.7 Cromatografía en capa fina .....</b>	<b>36</b>
<b>2.5.8 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales mediante un método colorimétrico.....</b>	<b>37</b>
<b>2.5.9 Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu .....</b>	<b>38</b>
<b>2.5.10 Capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH* .....</b>	<b>38</b>
<b>2.5.11 Evaluación de la actividad antiinflamatoria .....</b>	<b>39</b>
<b>CAPITULO III</b>	
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>3.1 Rendimiento de la obtención de extracto etanólico blando .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2 Análisis fisicoquímico de la droga cruda .....</b>	<b>42</b>

<b>3.3 Tamizaje fitoquímico .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4 Control de calidad del extracto etanólico blando de <i>Salvia quitensis</i>. .....</b>	<b>46</b>
<b>3.5 Cromatografía en capa fina del extracto etanólico blando .....</b>	<b>47</b>
<b>3.6 Cuantificación de flavonoides totales .....</b>	<b>49</b>
<b>3.7 Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu .....</b>	<b>51</b>
<b>3.8 Determinación de la capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH*</b>	<b>52</b>
<b>3.9 Actividad antiinflamatoria .....</b>	<b>54</b>
<b>3.9.1 Resultados de la administración de los extractos .....</b>	<b>54</b>
<b>3.9.2 Análisis estadístico .....</b>	<b>55</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Clasificación de los antiinflamatorios no esteroides según su.....	13
<b>Tabla 2-1:</b> Taxonomía <i>Salvia quitensis</i> .....	25
<b>Tabla 1-2:</b> Protocolo de la evaluación de la Actividad Antiinflamatoria “ <i>in vivo</i> ” .....	40
<b>Tabla 1-3:</b> Resultado del porcentaje de rendimiento del extracto etanólico blando de <i>Salvia quitensis</i> . .....	42
<b>Tabla 2-3:</b> Parámetros control de calidad de la droga cruda <i>Salvia quitensis</i> .....	43
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados Tamizaje Fitoquímico de <i>Salvia quitensis</i> .....	44
<b>Tabla 4-3:</b> Resultados Tamizaje Fitoquímico de <i>Eupatorium glutinosum</i> .....	44
<b>Tabla 5 -3:</b> Resultado del pH del extracto etanólico blando de <i>Salvia quitensis</i> .....	47
<b>Tabla 6 -3:</b> Posibles compuestos flavonólicos identificados en el extracto etanólico blando <i>Salvia quitensis</i> .....	47
<b>Tabla 7-3:</b> Posibles compuestos flavonólicos identificados en el extracto etanólico blando <i>Eupatorium glutinosum</i> .....	48
<b>Tabla 8 -3:</b> Posibles compuestos triterpénicos identificados en el extracto etanólico blando <i>Salvia quitensis</i> .....	49
<b>Tabla 9-3:</b> Resultados Cuantificación flavonoides totales del extracto etanólico blando <i>Salvia quitensis</i> y <i>Eupatorium glutinosum</i> .....	50
<b>Tabla 10-3:</b> Resultados Cuantificación de fenoles totales del Extracto etanólico blando <i>Salvia quitensis</i> y <i>Eupatorium glutinosum</i> .....	51
<b>Tabla 11-3:</b> Resultados de la determinación de la capacidad captadora de radicales libres del Extracto etanólico blando <i>Salvia quitensis</i> y <i>Eupatorium glutinosum</i> .....	52
<b>Tabla 12-3:</b> Resultados de la inflamación de los diferentes tratamientos expresados como área de inflamación en cm <sup>2</sup> .....	54
<b>Tabla 13 -3:</b> Resultados de la actividad antiinflamatoria expresado en porcentaje de inflamación. ....	55
<b>Tabla 14-3:</b> Test ANOVA de un factor para los diferentes tratamientos.....	57
<b>Tabla 15-3:</b> Prueba de TukeyB para la séptima hora .....	58

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Factores causales de la inflamación .....	6
<b>Figura 2 -1:</b> Desenlaces de la inflamación aguda .....	8
<b>Figura 3 -1:</b> Mecanismo de acción AINES .....	13
<b>Figura 4 1:</b> Lamiaceae .....	21
<b>Figura 5 -1:</b> <i>Salvia</i> <i>quitensis</i> .....	24

## INDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1 -3:</b> % Inflamación Vs Tiempo de los grupos tratados.....	56
<b>Gráfico 2 -3:</b> Porcentaje de inflamación de los grupos tratados a la séptima hora .....	59

## **INDICE ANEXOS**

**ANEXO A:** Recolección del material vegetal *Salvia quitensis*.

**ANEXO B:** Determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl y humedad.

**ANEXO C:** Maceración de la planta seca y molida con alcohol al 96%

**ANEXO D:** Tamizaje Fitoquímico

**ANEXO E:** Obtención del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*

**ANEXO F:** Análisis Cromatográfico para flavonoides

**ANEXO G:** Análisis Cromatográfico para triterpenos

**ANEXO H:** Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico

**ANEXO I:** Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

**ANEXO J:** Determinación de la capacidad captadora de electroes por el método del DPPH\*

**ANEXO K:** Materiales utilizados para la evaluación de la actividad Antiinflamatoria

**ANEXO L:** Dosis administradas a las ratas dependiendo su peso

**ANEXO M:** Administración de los extractos

**ANEXO N:** Inducción del edema plantar con carragenina al 1%

**ANEXO O:** Medición del área del edema generado.

**ANEXO P:** Curva de calibración para quercetina usada en la cuantificación

**ANEXO Q:** Curva de calibración para ácido gálico usada en la cuantificación de fenoles.

**ANEXO R:** Curva de calibración para la capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH\*

**ANEXO S:** Identificación y comprobación de la especie vegetal

## RESUMEN

Se determinó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Salvia quitensis* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas (*Rattus norvegicus*). El extracto de *S. quitensis* fue obtenido mediante maceración con alcohol al 96%, filtración y concentración del extracto, eliminando en su totalidad el solvente utilizado. Se realizó el control de calidad tanto de la droga cruda como del extracto etanólico. El contenido de flavonoides y fenoles totales se lo realizó a través de técnicas espectrofotométricas. La evaluación de la capacidad captadora de radicales libres se basó en el método propuesto por Brand-Williams. La inflamación fue inducida por inyección de carragenina al 1% bajo la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata, se utilizaron 24 ratas para este experimento las mismas que fueron elegidas al azar y divididas en 6 grupos. Se empleó como control positivo (Diclofenaco sódico), como extracto de referencia (*Eupatorium glutinosum*), extracto de *S. quitensis* a concentración de 25mg/Kg, 100mg/Kg y 300mg/Kg. La administración de los tratamientos fue por vía oral 30 minutos antes de la inducción del edema. Se midió el volumen del área de la pata con la ayuda del programa ImageJ. Se obtuvo el porcentaje de inflamación mediante el programa Microsoft Office Excel 2013, para el análisis estadístico se aplicó el test de ANOVA de un factor y TukeyB. Todos los tratamientos de una u otra manera presentaron una actividad antiinflamatoria ya que los porcentajes obtenidos se encontraron por debajo del valor del control negativo. El extracto etanólico blando de *S. quitensis* a una concentración de 100 mg/Kg mostró tener una gran actividad antiinflamatoria al presentar tan solo un porcentaje de inflamación del 49.5%, cuyo valor es muy cercano al control positivo y extracto de referencia en relación con las otras dosis administradas de 25 mg/Kg y 300 mg/Kg cuyos porcentajes fueron superior a este valor. Se recomienda realizar un estudio toxicológico del extracto etanólico de *S. quitensis* como complemento de la investigación.

**Palabras clave:** <TECNOLOGÍA CIENCIAS MÉDICAS>, <BIOQUÍMICA>, <FARMACOLOGÍA> <EXTRACTO ETANÓLICO>, <FLAVONOIDES TOTALES>, <FENOLES TOTALES>, <ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE>, <ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA>, <RATAS (*Rattus norvegicus*)>.

## SUMMARY

The anti-inflammatory activity from the ethanolic extract of *Salvia quitensis* was determined by inhibition of plantar edema induced with carrageenan in rats (*Rattus norvegicus*). The *Salvia quitensis* extract was obtained by maceration with 96% alcohol, and its filtration and concentration, too. With that the solvent used was removed entirely. Quality control on both the drug and the ethanolic extract was performed. The flavonoid content and total phenolic were carried out through spectrophotometric techniques. The evaluation of free radical capacity was based on the method proposed by Brand-Williams. The inflammation was induced by carrageenan injection of 1% under the plantar aponeurosis of the right back leg of the rat. Twenty four rats were used for developing this experiment. The same were chosen at random and divided into 6 groups. Diclofenac Sodium, was applied as positive control, Eupatorium glutinosum as reference extract and *Salvia quitensis* with 25 mg/kg, 100 mg/kg and 300 mg/kg. The treatments were administrated 30 minutes before induction of edema through via oral. The volume was measured in the leg of the rat with the ImageJ program. The percentage of inflammation was obtained with Microsoft Office Excel 2013. For the statistical analysis, the ANOVA test and TukeyB were applied. All treatments in some way had anti-inflammatory activity because the percentages obtained were below the value of the negative control. The soft ethanolic extract of *S. quitensis* at a concentration of 100 mg/kg showed a great antiinflammatory activity with 49.5%, inflammatory percentage. This value is very closer toward positive control and the reference extract regarding the other dosages 25 mg/kg and 300 mg/kg whose percentages were higher. It is recommended to develop a toxicological study from the ethanolic extract of *S. quitensis* for completing this the research study.

**Keywords:** <MEDICAL SCIENCE TECHNOLOGY>, <BIOCHEMISTRY>, <PHARMACOLOGICAL> <ETHANOLIC EXTRACT>, <TOTAL FLAVONOIDS>, <TOTAL PHENOLS>, <ANTIOXIDANT ACTIVITY>, <ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY>, <RATS (*Rattus norvegicus*)>.

## INTRODUCCIÓN

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroides AINES, constituyen un grupo farmacológico de amplia utilización, estos fármacos recetados son frecuentemente por los médicos y traumatólogos para tratar dolores musculares, esqueléticos, articulares o de algún proceso inflamatorio. Aproximadamente unos 30 millones de personas, entre ellas un 25% mayores de 40 años, toman a diario estos fármacos. Se estima que cada año por cada 1000 personas que toman un medicamento antiinflamatorio, se generan 13 complicaciones digestivas graves, entre ellas tenemos: úlceras, hemorragias digestivas altas, y sangrados en general, que incluso pueden generar la muerte del paciente.

Por lo general, estos fármacos son bien tolerados, pero pueden provocar diferentes efectos adversos con uso excesivo por parte de pacientes sin el menor conocimiento de cómo estos fármacos pueden actuar dentro del organismo. (Batlouni, 2009:pp. 538-546)

Dentro de estos medicamentos los más utilizados a nivel mundial se encuentran la aspirina (Ácido acetyl salicílico), ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, paracetamol, indometaxina, piroxicam y celecoxib, siendo el ibuprofeno el fármaco más vendido sin receta médica en todas las farmacias de la mayoría de países. Una de las causas de que ocurra esta automedicación de las personas se debe a que solamente una pequeña cantidad de pacientes está en la condición de acudir un centro médico para ser atendidos. (INFAC, 2012)

Debido a todos estos problemas ocasionados por los fármacos el farmacéutico se ve en la necesidad de investigar, analizar y dar soluciones a diferentes tratamientos farmacológicos que generen menos efectos secundarios en el paciente, siendo la utilización de plantas medicinales la opción más viable para reducir o minimizar dichos efectos.

La utilización de preparados a partir de plantas medicinales es una práctica frecuente en nuestra sociedad. Los extractos a base de plantas además de presentar un amplio rango terapéutico, tienen menos efectos secundarios, presentan baja toxicidad y en general causan menos reacciones adversas que los productos farmacéuticos, lo que los hacen más seguros y tienen un menor costo

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional herbolaria, para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud, por lo cual ha orientado protocolos científicos para el desarrollo de

fitofármacos, siempre y cuando los ensayos farmacodinámicos y toxicológicos siempre antecedan a la experimentación clínica. (Buitron, 2013:pp. 20-22)

En Ecuador existen una gran variedad de plantas las cuales tienen propiedades curativas y se estima que cerca del 70% de la población en algún momento ha consumido plantas medicinales, se observa que a medida que pasa el tiempo existe un notable incremento del consumo de plantas en este país.

Se investigó que existen plantas, las cuales presentan actividad antiinflamatoria, que contienen flavonoides, terpenos, taninos y otros compuestos polifenólicos que son reconocidos como sustancias antioxidantes, capaces de disminuir la hinchazón y favorecer la circulación de la sangre e irrigación de los tejidos aliviando así el dolor. (Bolt, 2012:pp. 1-149)

Desde tiempos remotos la familia Lamiaceae ha sido utilizada en el tratamiento de diferentes enfermedades, incluidas aquellas relacionadas con el sistema nervioso central. Consecuentemente, se han realizado exhaustivas investigaciones sobre los efectos farmacológicos de varias especies de esta familia. Entre estas, las más estudiadas pertenecen a los géneros *Origanum*, *Ocimum*, *Mentha*, *Salvia*, *Scutellaria*, *Plectranthus* y *Melissa*. (Fernández y Rivera, 2013: pp. 385-679)

*Salvia* es el género de esta familia que ha sido más empleado y estudiado por sus propiedades sedativas, relajante muscular, hipnóticas, antiinflamatorios, analgésicas, antiparquistónicas y en el mejoramiento de la memoria. Entre las estructuras químicas que pudieran ser responsables de los efectos de la familia Lamiaceae sobre el sistema nervioso central están los polifenoles (principalmente flavonoides), los mono, di, y triterpenos. (Hernández et al., 2012:pp 60-63)

En lo que concierne a la planta *Salvia quitensis* no se han realizado aun investigaciones sobre la actividad antiinflamatoria, pero según un estudio realizado por Alejandra López en el 2015, al ser una planta endémica de nuestro país es utilizada tradicionalmente para tratar diversas afecciones tales como la tos, dolor de garganta y pulmones, debido a los diferentes compuestos terapéuticos que esta especie posee, sin embargo existen diversos estudios e investigaciones de otras especies como es el caso del género *Salvia officinalis* L., que es una de las especies más representativas de la familia Lamiaceae y sobre todo la especie más estudiadas e investigadas a nivel mundial, cuya actividad antiinflamatoria ha sido demostrada. (López, 2016:pp 89-93)

Estudios realizados por Baricevid y colaboradores en el año 2000, en animales de experimentación (ratones) han demostrado la actividad antiinflamatoria de *Salvia officinalis* L.,

parece ser que el efecto es debido a la presencia del ácido ursólico y ácido oleanólico que son compuestos triterpénicos. La aplicación tópica de los extractos clorofórmico y hexánico inhibieron significativamente el edema inducido por aceite de Crotón en la oreja de los ratones. (Baricevic et al., 2001:pp 125-132)

Por otra parte Melgarejo R y colaboradores en el 2011 también demostraron la actividad antiinflamatoria de *Salvia officinalis* L al realizar una investigación de la efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis. Esta actividad se evaluó mediante un estudio cuantitativo, ciego, experimental del tipo ensayo clínico en 33 alumnos de odontología de la Universidad del Desarrollo –Chile, los cuales fueron tratados con un placebo y extracto de *Salvia officinalis* en dentífrico y colutorios, el cual logro disminuir significativamente el índice gingival del grupo tratado. (Valenzuela et al., 2011:pp 110-113)

Los objetivos de la investigación en *Salvia quitensis* son: Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Salvia quitensis* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas (*Rattus norvegicus*); Realizar el control de calidad del material vegetal y del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *Salvia quitensis*; Cuantificar el contenido de flavonoides totales, fenoles totales y la capacidad captadora de radicales libres del extracto etanólico de *Salvia quitensis* mediante técnicas espectrofotométricas; Elaborar una forma farmacéutica adecuada en base a las propiedades fisicoquímicas de los componentes activos del extracto etanólico de *Salvia quitensis*.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Actividad antiinflamatoria

##### *1.1.1 Inflamación*

La inflamación es una respuesta de defensa del sistema inmunológico frente a una lesión o infección a nivel del órgano o tejido afectado la cual puede ser causada por acción de factores químicos, físicos, infecciones microbianas, tejido necrótico y reacciones inmunitarias, desencadenando así una serie de signos y síntomas tales como: edema, dolor, tumefacción, calor, rubor, o en ciertas ocasiones la disminución de la función del órgano o tejido afectado. (Villalba, 2014:pp. 2261-2265)

Como principal respuesta a la lesión o infección se produce un efecto inflamatorio cuyo objetivo es librar al organismo del agente patógeno que causa la infección, inactivar toxinas, reparar y cicatrizar los tejidos lesionados, mediante la acción de diversas clases de glóbulos blancos. (Villalba, 2014:pp. 2261-2265)

La inflamación también es considerada como una de las principales manifestaciones de muchas enfermedades, ya que se trata de una respuesta específica ocasionada por agentes inflamatorios. Si no se trata adecuadamente el daño causado por la inflamación puede cambiar los tejidos y los huesos al causar dolor y dificultad al realizar movimientos y afectar la forma de los mismos. (Villalba, 2014:pp. 2261-2265)

##### *1.1.2 Finalidad de la inflamación*

Atenuar, destruir, mantener localizado al agente externo causante de la infección o lesión.  
Iniciar una cadena de acontecimientos que ayuden a reparar o curar el tejido lesionado  
Evitar la propagación de la lesión de forma incontrolada. (Viadero et al., 2016:pp 27-33)

### ***1.1.3 Componentes de la reacción inflamatoria***

Los macrófagos y especialmente los mastocitos son encargos de dar una repuesta rápida cuando el órgano o tejido es atacado por cualquier agente patógeno, estos mastocitos responden a los neuropéptidos que son liberados por las terminaciones nerviosas dañadas mediante la liberación de histamina, triptasa y otras proteasas. Consecutivamente también existe la participación de otras células tales como linfocitos, basófilos, neutrófilos, plaquetas, proteínas fibrilares, proteínas estructurales y células endoteliales los cuales también producen mediadores químicos. (García, 2010:pp. 91-159)

### ***1.1.4 Factores causales***

Una inflamación intervienen diferentes agentes causales entre los cuales comúnmente son: inductores, sensores, mediadores y efectores.

Los inductores pueden ser:

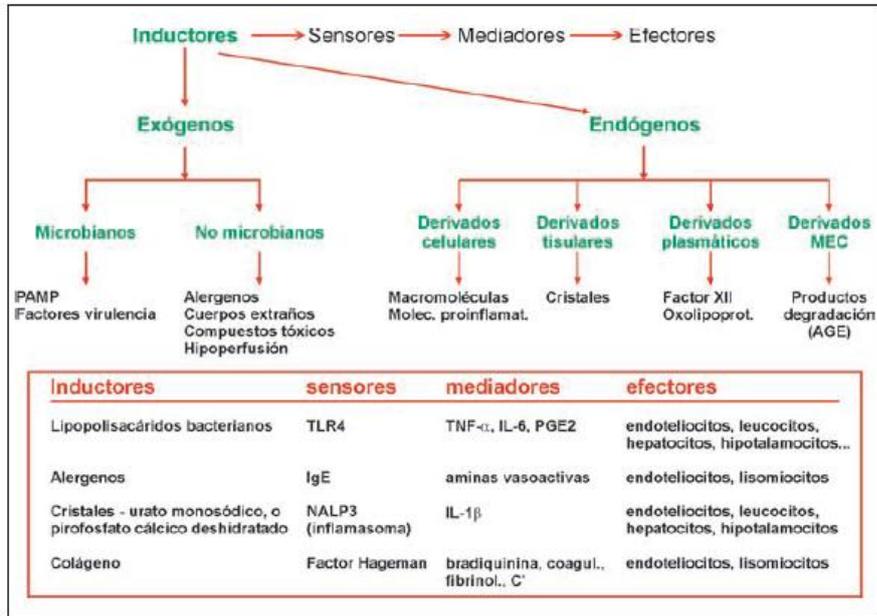
Endógenos: Dentro de estas causas endógenas se incluyen las mutaciones heredadas o adquiridas en los genes, rotura ósea, infarto tisular, mecanismos internos de apoptosis.

Exógenos: Dentro de estas causas tenemos, agentes físicos (quemaduras, traumatismo, heridas, lesiones) agentes químicos (corrosivos, mucosas por productos cáusticos, lesiones cutáneas), cuerpos extraños (astillas, suciedad, suturas) agentes biológicos (virus, bacterias, parásitos, toxinas microbianas), también puede deberse a reacciones de hipersensibilidad medidas por un mecanismo inmunológico.

Sensores como: TLR4, IgE y Factor Hageman

Mediadores: aminas vasoactivas, bradiquinina, histamina, óxido nítrico, citoquinas, eicosanoides, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos.

Efectores: Leucocitos, hepatocitos, lisomiocitos . (Pastrana y García, 2013: pp. 245-324)



**Figura 1-1:** Factores causales de la inflamación  
Fuente: (Juan Pastrana Delgado, 2013)

### 1.1.5 Manifestación de la reacción inflamatoria

Cornelio Celso describió que los principales signos que conforman una inflamación son:

**Dolor:** Es una de las manifestaciones más común de las lesiones inflamatorias, localizado en la zona afectada, debido a la irritación nerviosa provocado por los mediadores de la inflamación y a la compresión del líquido sobre las terminaciones nerviosas.

**Rubor:** Es el enrojecimiento de la zona inflamada provocada por la irritación de los vasos y el incremento del aporte de sangre lo que provoca la dilatación vascular.

**Tumefacción o tumor:** Es el aumento de volumen debido a una agregación anormal de fluidos en los espacios extravasculares, es decir debido al incremento de la vascularidad y a la acumulación de líquido en la zona afectada.

**Fiebre o Calor:** Aumento de la temperatura a nivel del tejido lesionado, debido al aumento del suministro sanguíneo, es la manifestación más común de la respuesta inflamatoria, esto se debe a la liberación de interleucinas que activan a las prostaglandinas que se van a dirigir a la región hipotalámica provocando el aumento de temperatura.

**Perdida de la funcionalidad:** Es decir la limitación de la función normal del tejido afectado. (Bordés et al., 2010)

## ***1.1.6 Tipos de inflamación***

### ***1.1.6.1 Inflamación aguda***

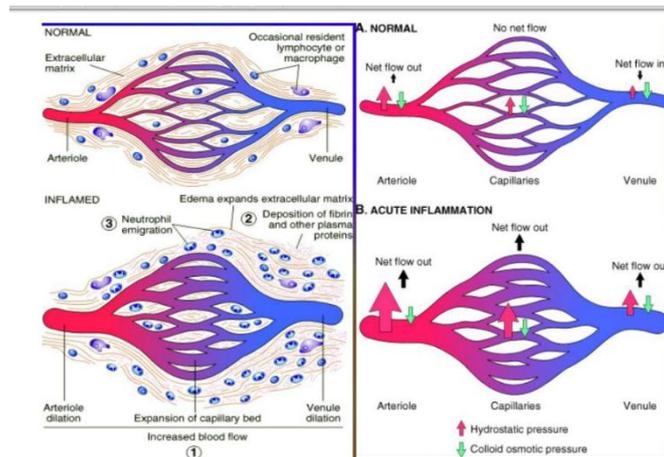
La inflamación aguda se caracteriza por dar una respuesta rápida ante un ataque del agente agresor, mediante la liberación de mediadores de defensa del huésped (leucocitos y proteínas plasmáticas), aunque tiene una duración corta esta presenta una respuesta vascular prominente con signos inflamatorios muy marcados. Sus principales características son la exudación de líquido, de proteínas y la migración neutrófilos.

La inflamación aguda presenta tres componentes principales los cuales son:

Alteración del calibre vascular que aumenta el flujo sanguíneo: El aumento del flujo sanguíneo se produce como resultado del calor y enrojecimiento en la lesión, que son característicos de la inflamación aguda. Además permite el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos para la liberación del exudado en el intersticio, como también el aumento de la concentración de glóbulos rojos incrementando la viscosidad sanguínea provocando así que el flujo se más lento. (Robbins y Cotran, 2015: pp. 123-453)

Cambios estructurales en la microvasculatura que hacen que los leucocitos y las proteínas plasmáticas abandonen la circulación: Se produce la formación del edema como resultado de la salida de agua e iones desde los capilares conjuntamente con el aumento de la presión hidrostática intravascular hacia los tejidos extravasculares mediante la vasodilatación arteriolar y el incremento del riego sanguíneo.

Migración, activación y acumulación de leucocitos en el foco de la lesión: El proceso de activación de los leucocitos dan lugar a un aumento de  $Ca^{++}$  citosólico y la activación de diversas enzimas como proteincinasa C y fosfolipasa A2 las cuales nos van a dar diversas respuestas como producción de metabolitos de ácido araquidónico de los fosfolípidos, activación del estallido oxidativo y secreción de citosinas que regulan la respuesta inflamatoria. (Garn et al., 2016,pp 47-55)



**Figura 2 -1:** Desenlaces de la inflamación aguda

Fuente: (Robbins, 2008)

El proceso de la inflamación aguda puede verse alterada dependiendo de la intensidad de la lesión, la localización de la misma y el tejido afectado. Pero generalmente la inflamación aguda puede tener alguna de los siguientes cuatro resultados:

Resolución completa: Es decir con la restauración del sitio de la lesión y con la regeneración de las células originales, todo este proceso implica la eliminación y neutralización de los mediadores químicos de la inflamación, la vasodilatación y la permeabilidad vascular vuelve a ser normal, consuntamente con la desaparición del edema y residuos . (Duarte et al., 2011.pp 225-233)

Formación de acceso: Esto ocurre especialmente en las lesiones o infecciones producidas por microorganismo piógenos. (Nogales, 2011:pp. 62-69)

Fibrosis: Esto se produce como resultado de la destrucción tisular, es decir cuando el tejido lesionado no tiene la capacidad de regenerarse y cuando existe una exudación abundante de fibrina, cuando el exudado no es eliminado, esta crece convirtiéndose en tejido fibroso para secuencialmente convertirse en pus y finalmente ser reemplazado por fibrosis.

Evolución hacia una inflamación cónica: Es la transición de inflamación aguda a crónica, esto ocurre cuando no se encuentra una solución o una respuesta sobre la inflamación aguda debido a resistencia y persistencia del agente nocivo presente en el tejido lesionado. (Robbins y Cotran, 2015: pp. 123-453)

### 1.1.6.2 *Inflamación crónica*

La inflamación crónica se caracteriza por ser una inflamación mantenida, persistente y de duración prolongada (semanas o meses) y esta mediada principalmente por la inmunidad tisular, esta inflamación activa genera simultáneamente destrucción tisular, intentos de curación o reparación, daño celular generando así un proceso neoplásico. (García, 2010:pp. 91-159)

Dentro de las causas de la inflamación crónica se destacan:

**Infección por microorganismos resistentes a la fagocitosis:** Los cuales pueden ser de toxicidad baja pero evocan una respuesta de hipersensibilidad retardada. Un ejemplo de ellos son los bacilos de la tuberculosis, *treponema pallidum* y algunos hongos.

**Exposición prolongada de agentes potencialmente tóxicos:** Presencia de cuerpos extraños de origen externo o de origen interno.

**Enfermedades inmunológicas:** Se produce cuando el organismo mediante reacciones inmunitarias dañan de manera persistente los propios tejidos del individuo. Ej. Artritis reumatoide.

**Otras como la arteriosclerosis:** Caracterizado por la presencia de un proceso inflamatorio crónico del endotelio vascular. (Pastrana y García, 2013: pp. 245-324)

**Características de la inflamación crónica**

- Infiltración por células mononucleares sobre todo por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas.
- Destrucción tisular provocada principalmente por células inflamatorias o por persistencia del agente: Estas células inflamatorias liberan citosinas que generan la destrucción del propio tejido.
- Intento de curación del tejido dañado mediante sustitución por tejido conectivo, pasa a fibrosis y finaliza con angiogénesis. (Tamames y Martínez, 2000: pp. 156-367)

En los casos en que la inflamación crónica tiene su origen en la transformación de una inflamación aguda, se debe a la persistencia de neutrófilos durante meses en el daño tisular. Son aquellos que se pueden observar macroscópicamente como una supuración en la lesión con signos inflamatorios, asimismo presentan áreas de cicatrización los cuales nos indica su larga evolución. (Tortosa y Crespo, 2012: pp. 114-208)

### ***1.1.7 Mediadores de la inflamación***

Estos mediadores pueden andar libremente en el plasma o ser producidos localmente por células presentes en el foco inflamatorio. La mayor parte de estos mediadores para ejercer su actividad necesitan estar unidos a receptores específicos localizados en las dianas, por lo general un mediador puede liberar otros mediadores existiendo así un mecanismo de ampliación. Estos mediadores una vez q son activados presentan una vida muy corta y desaparecen fácilmente o a menudo son inactivados por enzimas. (García, 2010:pp. 91-159)

La mayoría de los mediadores son potencialmente activos que pueden originar efectos nocivos. (García, 2010:pp. 91-159)

Existen dos tipos de mediadores:

- Mediadores derivados de las células
- Mediadores plasmáticos de la inflamación

Los mediadores químicos se originan del plasma o de las células, estos actúan uniéndose a receptores específicos, mientras que otros presentan actividad enzimática, hasta el momento son los siguientes:

**Histamina:** Este mediador se encuentra ampliamente distribuido por el organismo, es una amina producida por células cebadas y basófilos obtenida por descarboxilación, del aminoácido histidina. Actúan principalmente sobre los receptores H1, H2, H3, produciendo así vasodilatación, incremento de la permeabilidad, efectos inhibidores o reguladores de la inflamación. (Bordés et al., 2010)

**Eicosanoides:** Son ácidos grasos poliinsaturados , compuestos por 20 átomos de carbono, que incluyen las prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas, ácido hidroxieicosatetranoico (HETE) y epóxidos. La producción de estos eicosanoides está limitada a la liberación del araquidónico, una vez formado este ácido puede seguir dos vías metabólicas, la de la enzima ciclo-oxigenasa que conduce la formación y producción de prostaglandinas y tromboxanos y la vía lipooxigenasa que lleva a la formación de los leucotrienos.

Una vez sintetizadas todas estas sustancias de carácter lipídico, se convierten en el segundo grupo más importante de los mediadores de la inflamación.

**Enzimas proteolíticas:** La más importante es la kininogenasa liberada por los mastocitos, estas enzimas actúan sobre los kininògenos provocando su ruptura y convirtiéndolos en moléculas más

pequeñas denominadas kininas, las cuales son las responsables de la vasodilatación y estimulan las terminaciones nerviosas del dolor. (Bordés et al., 2010)

**Factor activador de plaquetas (FAP):** Este es un mediador bioactivo, presenta varias propiedades tales como: activador de la agregación de plaquetas e inicia los procesos de coagulación, aumenta la quimiotaxis, permeabilidad vascular y la vasodilatación. (Bordés et al., 2010)

**Óxido nítrico:** Es sintetizado por los macrófagos, células endoteliales y grupos neuronales, es un mediador pleiotropico de la inflamación. Este actúa de manera paracrina sobre células diana de inducción del GMP provocando el inicio de una serie de reacciones intracelulares dando lugar al aumento de la permeabilidad vascular, relajación del musculo liso vascular y la vasodilatación. (Bordés et al., 2010)

Los mediadores plasmáticos de la inflamación están ejercen su actividad a partir de proteínas plasmáticas, las cuales pertenecen a tres sistemas interrelacionados como son: el sistema de complemento, la coagulación y las quininas.

El factor Hageman (Factor XII) para poder activar el sistema de coagulación ya sea a través de la fibrinólisis o de la quininas, necesita ser activado por superficies extrañas tales enzimas proteolíticas o la membrana basal cargadas negativamente, permitiendo así el aumento de la permeabilidad vascular y la estimulación de las terminaciones nerviosas del dolor. (Quishpi, 2012:pp. 20-28)

### ***1.1.8 Fases de la inflamación***

Se dividen en 5 etapas:

1. Liberación de mediadores: El cual consiste en la liberación de moléculas a partir de los mastocitos.
2. Efecto de los mediadores: Se produce un efecto quimiotácticos a nivel del tejido vascular afectado favoreciendo así la llegada de moléculas y células inmunes a dicha lesión.
3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio: Estas células son provenientes en su mayoría de la sangre.
4. Regulación del efecto antiinflamatorio: Integra una serie de mecanismos inhibidores con la finalidad de equilibrar el proceso.
5. Reparación: Se le denomina comúnmente angiogénesis la cual consiste en la reparación total o parcial del tejido dañado gracias a la acción de los fibroblastos. (Cuenca et al., 2012:pp. 90-97)

## 1.2 Antiinflamatorios

Son fármacos elaborados para lidiar la inflamación y las diferentes enfermedades que conlleva un proceso inflamatorio, tales como: reumatismo, fracturas, quemaduras, estomatitis, roturas y lesiones urinarias, se debe tener mucho cuidado al momento de su administración ya que puede generar efectos colaterales, intoxicaciones y sobredosis si no es tomada de la manera adecuada. Los antiinflamatorios se usan comúnmente para tres cosas como: aliviar el dolor, reducir la inflamación y reducir la fiebre, gracias a que estos también presenten acciones analgésicas y antipiréticas. (Muriel Le Bourgeois et al., 2016:pp.1-10)

### 1.2.1 *Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)*

En la actualidad los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) constituyen uno de los grupos de medicamentos más prescritos en todo el mundo, ya que estos presentan una gran variedad de indicaciones y actividades terapéuticas. Los AINES son fármacos antiinflamatorios, analgésicos, antipiréticos y, algunos, antiagregantes plaquetarios. En esta categoría existen muchos compuestos que en general difieren mucho en sus características químicas pero a pesar de ello comparten ciertas acciones terapéuticas y efectos secundarios. (Batlouni, 2009:pp. 538-546)

Este grupo de fármacos tiene como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (Cox-1 y 2). La aspirina es el prototipo del grupo y es la droga con la cual distintos fármacos son comparados. Otra denominación común para este grupo es drogas anticiclooxigenasa debido a que inhiben a esta enzima que es la responsable de la síntesis de prostaglandinas.

La vida media de los AINES se divide en tres grupos:

- Vida media corta: es menos de 6 horas, dentro de este grupo se encuentran el diclofenaco, ibuprofeno, aspirina, indometacina, ketoprofeno.
- Vida media intermedia: entre 6 y 10 horas, tenemos el carprofeno, fenbufen y diflunisal
- Vida media larga: más de 10 horas, tenemos el naproxeno, proroxicam, nabumetona y sulindac

En lo que se refiere a los medicamentos AINES de liberación sostenida, no se ha demostrado que dicha formulación generen alguna ventaja terapéutica, sin embargo la administración de estos fármacos es menos frecuente. (Salvatierra et al, 2013:pp. 13-20)

**Tabla 1-1:** Clasificación de los antiinflamatorios no esteroides según su selectividad por la ciclooxigenasa.

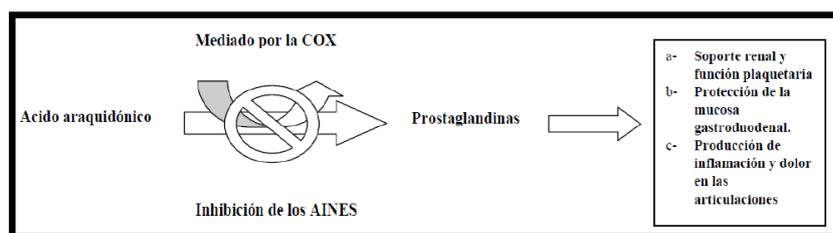
AINES Clasificación	
No selectivos (Cox-1 y 2) (Tradicionales, convencionales)	Selectivos (COX-2) (COXIBEs)
Aspirina	Rofecoxib
Acetaminofén	Valdecoxib
Indometacina	Parecoxib
Ibuprofeno	Celecoxib
Naproxeno	Etoricoxib
Sulindac	Lumiracoxib
Diclofenaco	
Piroxicam	
Meloxicam	
Cetoprofeno	
B-Piroxicam	

Fuente: (Batlouni, 2013)

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

### 1.2.2 Mecanismos de acción

Los AINES inhiben la actividad de la enzima ciclooxigenasa (COX) obteniendo como resultado la disminución de la formación de prostaglandinas y tromboxanos los cuales son obtenidas a partir del ácido araquidónico. La disminución de estas prostaglandinas es el principal efecto terapéutico de los AINES ya que estas son las responsables de la producción de dolor, fiebre e inflamación del tejido afectado.



**Figura 3 -1:** Mecanismo de acción AINES

Fuente: (Robbins, 2008)

Los AINES inhiben de manera no selectiva la actividad enzimática de las isoformas de la ciclooxigenasa, siendo estas COX-1 y COX-2, en la cual la primera isoforma COX-1 presenta características de enzima constitutiva cuya actividad está relacionada con participación de la prostaglandinas y tromboxanos, mientras que la COX-2 presenta características de enzima inducible en determinadas células patológicas mediante la acción de las citoquinas las cuales se encuentran en mayor cantidad en el tejido dañado.

Los AINES presentan mayor afinidad por la inhibición de la COX-1 ya que esta isoforma está relacionada con la aparición de los efectos secundarios a nivel del tejido lesionado. (Hall et al, 2014:pp. 4-20)

### ***1.2.3 Reacciones adversas más frecuentes***

**Gastrointestinales:** Estas manifestaciones clínicas se presentan entre 5 al 10% dadas por: dispepsia, náuseas, vómito, ardor epigástrico, flatulencia, dolor abdominal, hemorragia digestiva, úlcera péptica. Por lo general la mayoría de estas manifestaciones clínicas son moderadas y reversibles.

**Hipersensibilidad:** Los AINES tienen la capacidad de presentar una serie de reacciones de hipersensibilidad presentando las siguientes manifestaciones alérgicas tales como: asma bronquial, rinitis, poliposis nasal, angioedema, urticaria, broncoconstricción y shock anafiláctico.

**Efectos a nivel del SNC:** Se presentan diversas manifestaciones, tales como: dolor de cabeza, depresión, nerviosismo, confusión, insomnio, pérdida auditiva, tinnitus, mareos. En pacientes de edad avanzada además de estos síntomas pueden presentar un deterioro de la memoria e incluso un déficit de atención.

**Cardiovascular:** Por la presencia de un infarto agudo al miocardio, problemas vasculares periféricos y arteriales.

**Efectos hematológicos:** Dentro de estas se encuentra la anemia, neutropenia, trombocitopenia, eosinofilia y agranulocitos. (Jiménez et al, 2013:pp. 1-6)

**Efecto a nivel pulmonar:** Se presentan indicios de reacciones alérgicas o inmunes, tales como: neumonitis, fibrosis pulmonar e infiltrado pulmonar.

**Efecto renal:** La principal manifestación clínica asociada al consumo de AINES es la nefrotoxicidad, dentro de esta se encuentra la nefritis, la falla renal, retención del fluido y el síndrome nefrótico. (Arriagada et al, 2012:pp.309-317)

### ***1.3 Diclofenaco sódico***

El diclofenaco sódico es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) derivado del ácido fenilacético se lo utiliza como agente analgésico, antiinflamatorio, en la artritis reumatoide,

enfermedades degenerativas de las articulaciones en el tratamiento del dolor resultante de un intervención menor, trauma y dismenorrea. Este fármaco tiene una eliminación del organismo relativamente corta vida media, por lo que se limita el potencial para la acumulación del fármaco.

En numerosas investigaciones y ensayos clínicos se ha comprobado que la eficacia del diclofenaco sódico es equivalente a la de muchos, nuevos y establecidos AINES, como es el caso de comparación con la aspirina ya que el diclofenaco sódico también puede ejercer un efecto analgésico que tiene un inicio rápido de la acción con una larga duración.

El diclofenaco sódico se encuentra disponible en distintas formas farmacéuticas, tales como inyectables comprimidos, ampollas y en forma de supositorios.

Extensa experiencia clínica con diclofenaco permitió establecer claramente su perfil de seguridad, es decir este fármaco es bien tolerado por el organismo a dosis adecuadas en comparación con otros AINES, por lo tanto el diclofenaco sódico puede ser considerado como uno de los pocos AINES de primera elección al momento de tratar alguna afección dolorosa. (Brogden et al, 2015:pp.24-48)

### ***1.3.1 Efecto terapéutico***

El diclofenaco sódico es utilizado en pacientes que presentan artritis reumatoide activa, osteoartritis, espondilitis, en inflamaciones post-traumáticas y post-operatorias, mostrando similar analgesia y eficacia antiinflamatoria a dosis terapéuticas habituales de otros AINES. Este fármaco con respecto a la artritis reumatoide activa lo que va hacer es aliviar el dolor, a disminuir la duración de la rigidez matutina, disminuir de la sensibilidad de la articulaciones y a disminuir la circunferencia de la interfalángica proximal y de otra articulaciones afectadas. (Vieira et al., 2016:pp 107-113)

Se ha realizado un gran número de comparaciones del efecto terapéutico del diclofenaco sódico con otros fármacos, tales como: aspirina, carprofeno, naproxeno, piroxicam, ibuprofeno, fenclofenaco, isoxicam, procuazona, ketoprofeno, ácido tiaprofenico, y sulindac, no encontrándose así diferencias significativas para algunos parámetros de evaluación. (Brogden et al, 2015:pp.24-48)

### ***1.3.2 Mecanismo de acción***

El mecanismo de acción del diclofenaco sódico es igual a de los otros AINES, la cual consiste en la inhibición de las vías de las ciclooxigenasas (COX-1 Y COX-2) evitando así la biosíntesis de

prostaglandinas las mismas que son las responsables del desarrollo de la inflamación, fiebre y dolor . (Mukhija y Kishore, 2016:pp. 1-11)

### ***1.3.3 Posología***

Adultos

Casos leves: 75mg-100mg/Kg/día 2-3 veces al día

En dismenorrea primaria: 50-200mg/Kg/día

Ancianos: 50mg/Kg/día

Niños: 0.5-3 mg/kg/día 2 veces al día, durante 2 días

El diclofenaco no se recomienda para niños menores de 18 meses de edad y solo cuando sea necesario puede administrarse en mujeres embarazadas o en periodo de lactancia al igual que en pacientes que presenten enfermedades gastrointestinales. (Vademecum, 2015:pp.1-4)

### ***1.3.4 Reacciones secundarias y adversas***

Al igual que otros medicamentos AINES, el diclofenaco sódico ha sido tolerado por el organismo en dosis adecuadas y moderadas. Una mala administración de este fármaco ya sea por altas dosis o por interacción con otros medicamentos. Los efectos secundarios por lo general aparecen en los 6 primeros meses del tratamiento y son más frecuentes en personas adultas. Puede desencadenar una serie de reacciones adversas en el organismo, estas pueden ser:

Problemas gastrointestinales: Estos son los efectos secundarios más frecuentes del diclofenaco sódico, estos problemas ocurren aproximadamente en el 10% de los pacientes. Entre ellos tenemos, ulceraciones gástricas, dolor epigástrico, flatulencia, dispepsia.

- A nivel del SNC: Los síntomas más comunes son, cefaleas, mareos, somnolencia
- A nivel de la piel: urticaria y erupciones cutáneas
- A nivel del riñón: Produce edemas, fallo renal, trastornos urinarios
- A nivel del hígado: Produciendo aumento de las transaminasas séricas, hepatitis con o sin ictericia.
- Complicaciones hematológicas graves: El paciente presenta trombocitopenia, leucopenia, agranulocitosis y anemia.
- Sistema Cardiovascular: El paciente presenta dolor torácico, presión arterial alta, insuficiencia cardíaca. (Vademecum, 2015:pp.1-4)

## 1.4 Biodiversidad en el Ecuador

Desde un punto de vista geográfico el Ecuador es considerado como uno de los países más pequeños, a pesar de su reducido territorio se caracteriza principalmente por su población de especies vegetales y animales, diversidad de zonas climáticas y su topología.

El Ecuador es un país muy privilegiado en términos de biodiversidad, en este lugar existe del 5-10% de la biodiversidad del planeta, en la actualidad el 52% del territorio ecuatoriano presenta cobertura vegetal natural, la cual genera una nueva visión de conservación, tratamientos y sobre todo el uso responsable que garantice el respeto de todas las áreas naturales del país.

Es impresionante la cantidad y la variedad de especies que se pueden encontrar en este país, existen dos grupos de especies en la que nuestro país se destaca notablemente: en plantas tenemos alrededor de un décimo y en aves tenemos alrededor de un quinto de especies de todo el planeta.

Tanto las especies vegetales como animales que habitan en las cuatro regiones de este territorio, convierten a Ecuador en un país heterogéneo donde es posible tener una vida privilegiada, además de poseer costas tropicales, grandes cordilleras montañosas, inmensas florestas selváticas y diversas corrientes marinas y cálidas que han generado una gran diversidad de ambientes.

Probablemente la riqueza biológica del Ecuador se refleja en toda una gama de organismos, ya que el 10% de las plantas vasculares se encuentran en un área donde apenas representa el 2% de la superficie total de la tierra.

Muchas de estas especies son endémicas de este país, es decir no se las encuentra en ningún otro país más. La conservación de la biodiversidad tiene que ver con lo que la gente sabe y con qué fines la utiliza para que no exista una explotación de los recursos naturales del país, ya que lamentablemente el ser humano no es consciente del daño que puede provocar a nuestro territorio con el uso abusivo de nuestros recursos naturales.

El privilegio de tener este país tan diverso obliga a todos los ecuatorianos a conservar con responsabilidad la flora y fauna que son riquezas que no todos los países pueden poseer.

Actualmente el gobierno ecuatoriano ha intentado incrementar el cuidado de diversas zonas de gran importancia, sin embargo existen algunos grupos internacionales que han intentado entrar a la fuerza a ciertos territorios biodiversos para obtener beneficios económicos mediante la explotación de la tierra y generando grandes daños.

La explotación excesiva de los recursos puede generar que el Ecuador con el pasar de los años se quede sin recursos naturales ocasionando la pérdida de la biodiversidad biológica del mismo y del planeta. (Ministerio del Ambiente, 2013)

### ***1.3.1 Importancia***

La biodiversidad y los ecosistemas son el soporte vital de la tierra, dependemos de ellos para poder mantener la vida en nuestro planeta, además otra ventaja de mantener intacta nuestros recursos naturales es que nos brindan grandes beneficios para el desarrollo de la comunidad y del país, como lo son las diversas investigaciones y experimentos dedicados a la medicina a la tecnología y con ello mejorar la calidad de vida gracias al aporte de nuestro entorno basado en animales, plantas y minerales existentes en nuestro territorio.

La importancia de nuestro mundo natural se evidencia de miles de maneras como la presencia de miles de organismos que interactúan entre sí para contribuir con el balance del ecosistema global y supervivencia del planeta, plantas y árboles que ayudan a minimizar el calentamiento global. (Ministerio del Ambiente, 2013)

## **1.4 Fitoterapia**

La fitoterapia es la ciencia que se encarga del estudio de la utilización de productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, con el único objetivo de prevenir, curar, minimizar o tratar alguna patología. La utilización de productos de origen vegetal con fines curativos ha variado a lo largo del tiempo, actualmente existe una base científica que afirma y apoya la eficacia de muchos productos fitoterapéuticos.

La fitoterapia engloba una gran cantidad de productos vegetales que presentan diferentes propiedades terapéuticas, la utilización más común de estos productos es en forma de soluciones líquidas o en comprimidos elaborados en base a extractos de las plantas, ungüentos, pomadas y lociones, aunque estas plantas tradicionalmente en su mayoría han sido utilizadas a manera de infusión de cualquiera de sus partes, especialmente sus hojas. (Cañigueral et al, 2013:pp.265-278)

Las drogas vegetales son la base de aquellos medicamentos fitoterapéuticos y de los diferentes productos que de ella se obtienen. La OMS describe que el término droga vegetal no puede confundirse con el de planta medicinal ya que, la planta medicinal es una planta que contiene en uno o más órganos sustancia que pueden ser utilizadas con una finalidad terapéutica, mientras

que las drogas vegetales es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica que contiene metabolitos responsables de generar la acción farmacológica. (OMS, 2013)

La eficacia de los preparados fitoterapéuticos solo se lo consigue con el uso adecuado de los mismos, estos deben ser de calidad, seguros y confiables. Estos productos deben ser poco potentes o de potencia intermedia, con un bajo porcentaje de efectos secundarios.

La aplicación de la fitoterapia es innumerable en la mayoría de los países a nivel mundial, sin embargo esto se reduce principalmente a la aplicación de diversas afecciones tales como:

- Alivio de síntomas concretos: tos, dolor reumático, picores, astenia.
- Trastornos no graves: cefaleas, trastornos estomacales, menstruales, dermatitis.
- Trastornos crónicos: ansiedad, depresión, diabetes, asma, hipertensión, alergias, artritis.

(Cañigüeral et al, 2013:pp.265-278)

Se han realizado algunas investigaciones sobre la actividad terapéutica de algunas plantas medicinales como por ejemplo estudios realizados sobre la actividad antiinflamatoria de *Eupatorium glutinosum* entre ella tenemos:

Una investigación realizada por Miranda Nuñez y Mirian Rocio que consistía en la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de *Piper elongatum* (Matico) en animales de experimentación (cobayos) comparado con un fármaco de referencia (indometacina), los resultados determinaron que este extracto alcohólico de *P. elongatum* presenta una moderada actividad antiinflamatoria frente a la indometacina ambos administrados por vía oral con un porcentaje de inhibición de inflamación de 56,7%, cercano al porcentaje de inhibición del fármaco de referencia que fue de 76.8%. (Miranda, 2010:pp. 50-54)

### **1.5 Familia *Lamiaceae***

La familia *Lamiaceae* comprende alrededor de unos 210 géneros, entre las cuales podemos destacar las salvias, albahacas, oréganos y mentas. Esta familia también es conocida botánicamente con el nombre de Labiatae o Labiadas, estas son un grupo de plantas constituidas principalmente por arbustos o hierbas que presentan un tallo de forma cuadrangular y hojas decusadas, las flores presentan un cáliz con 5 pétalos y una corola que tiene los pétalos unidos, los estambres son piezas florales masculinas y siempre son menos de 5 o raramente son 2, también presenta dos carpelos que son aquellos que contienen el ovulo. La planta puede crecer hasta un metro de altura sobre suelos calizos. Estas plantas presentan en todas sus partes glándulas secretoras de aceites esenciales volátiles (Martínez et al, 2013:pp.30-86)

### ***1.5.1 Distribución y habitad***

A las *Laminaceae* se les considera como una familia Cosmopolitan ya que presentan una amplia distribución a nivel mundial, aunque la mayoría de sus especies se encuentran en mayor cantidad en la región mediterránea. (Martínez et al, 2013:pp.30-86)

### ***1.5.2 Uso e Importancia económica***

La familia *Lamiaceae* presenta un gran interés económico a nivel mundial ya que la mayor parte de estas especies son cultivadas para ser usadas en la medicina, en algunos casos se la utiliza como ornamentales y muy raramente como alimento. (Fernández y Rivera, 2013: pp. 385-679)

Ciertas especies de estas familias poseen propiedades fitoquímicas gracias a la presencia de diversos compuestos que son de gran interés en el mundo de la investigación científica. Como es el caso de las Salvias.

Entre las especies de interés culinario se encuentra el romero y el orégano, cuyas hojas se utilizan como condimento y aromatizante, otras especies son utilizadas para la elaboración de perfumes como es el caso de la *Lavandula officinalis* L. (Lavanda) ya que la mayor parte de estas plantas poseen aceites esenciales en todas sus partes.

Existen algunas especies de plantas dentro de esta familia que son utilizadas como medicina tradicional, especialmente sus hojas para tratar afecciones como: antirreumático, estomacal, anticatarral, cicatrizante, tranquilizante, antiinflamatorio, etc.

Entre ellas podemos citar:

*Minthostachys mollis* Griseb (piperina): esta planta se la prepara a manera de infusión por sus propiedades digestivas.

*Mentha x piperita* L. (menta): las personas utilizan la infusión de las hojas para tratar los problemas estomacales, para tratar los dolores de cabeza pegan las hojas con cera en la frente y sienes ya que presenta propiedades analgésicas, anestésicas y sedantes

*Mentha x rotundifolia* (yerba buena): La infusión de estas hojas sirve como somnífero y para tratar dolores estomacales.

*Ocimum sanctum*: Para tratar la ansiedad, la depresión, el estrés.

*Salvia officinalis*: Presenta efectos como antidepresiva, sedante, relajante muscular, alucinógeno, analgésico, antiinflamatorio, neuroprotector, hipnótico, anticonvulsionante.

*Salvia lavandulaefolia*: Esta ha sido utilizada tradicionalmente como antidepresiva, ansiolítica, contra la cefalea.

*Plectranthus amboinicus*: Presenta efecto sedante, antiepiléptico y anticonvulsionante. (Fernández y Rivera, 2013: pp. 385-679)

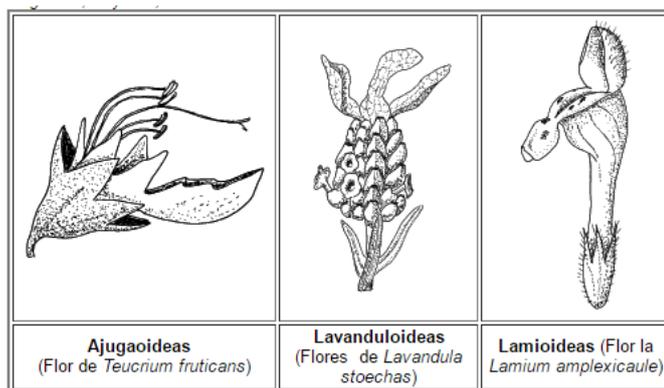
### 1.5.3 Clasificación

Las Lamiaceae son consideradas como una de las familias más evolucionadas y más extensas de las dicotiledóneas, aunque aún no existe una sistémica de esta familia, en ella se encuentran diferente subfamilia y géneros. Las de mayor importancia son las siguientes:

Subfamilia *Lamioideas* (*Lamioideae*): Dentro de estas se encuentra el género *Salvia*, *Mentha*, *Satureja*, *Origanum*, *Hyssopus*, *Lamium*.

Subfamilia *Lavanduloideas*: Lavanda

Subfamilia *Ajugoideas*: *Rosmarinus*, *Ajuga*, *Teucrium* (Fernández y Rivera, 2013: pp. 385-679)



**Figura 4 1:** *Lamiaceae*

**Fuente:** (Fernández, 2013)

### 1.6 Género *Salvia*

El género salvia cuyo nombre proviene del latín “salvus” que significa salvar o curas, es el grupo más grande de las Lamiaceae, presentan al menos 900 especies, la mayor diversidad de esta especie se encuentran distribuidas en el Sureste Asiático, Europa, Centro y Suramérica, las cuales algunas han sido cultivadas por el hombre con diferentes fines mientras que la mayoría son silvestres y muy abundantes. Este género se divide en 4 subgéneros que son: Calosphace, *Salvia*, *Leonia* y *Sclarea*. (Comejo e Ibarra, 2011: pp. 1279-1296)

Se las puede reconocer fácilmente, ya que estas presentan un cáliz labiado, 2 estambres y un distintivo mecanismo de polinización, sin embargo el androceo y polinización de estas plantas aparentemente han evolucionado independientemente en varias ocasiones. (Wood, 2014: pp.177-221) Muchas especies de este género han sido utilizadas tradicionalmente para tratar diversas afecciones del organismo, la especie más utilizada, investigada, estudiada y de mayor interés es la *salvia officinalis*. (Wood, 2014: pp.177-221)

### ***1.6.1 Rasgos morfológicos***

Las formas de crecimiento de las Salvias son hierbas anuales y perennes, crecen generalmente en forma de arbustos y raramente son trepadores, presentan un cáliz y una corola que une los pétalos, tiene un ovario que se divide en cuatro lóculos, presenta dos estambres lo que permite que el polen se adhiera al cuerpo de los polinizadores. Varias de estas especies se caracterizan por la forma de sus hojas y su tamaño pueden ser enteras, dentadas o pinnadas, su tallo es angular y el color de sus flores son de color azul, blanco o rojo. (Wood, 2014: pp.177-221)

### ***1.6.2 Composición química***

Los compuestos se encuentran principalmente concentrados en las hojas y flores de la planta, entre ellos tenemos:

Aceites esenciales, monoterpenos (cineol, alcanfor) sesquiterpenos, triterpenos, flavonoides, saponinas, taninos, ácido rosmarínico, glucosa, metilgalactosa, arabinosa, manosa, xilosa, sustancias estrógenas y bactericidas,  $\alpha$  y  $\beta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol, ácidos fenólicos, aldehídos. (Hernández et al., 2012:pp 60-63)

### ***1.6.3 Propiedades terapéuticas***

Las salvias desde hace mucho tiempo atrás se las utiliza como hierba medicinal, ya sea en forma de infusión, extracto fluido, aceites esencial, tintura, en polvo o en extracto seco para tratar diversas afecciones del organismo, estas plantas presentan diversos efectos terapéuticos, entre las cuales tenemos:

- Actividad antiséptica y antiinflamatoria: Reduce la respuesta inflamatoria del organismo, especialmente en personas que padece de artritis reumatoide, arterioesclerosis y asma bronquial.
- Afecciones estomacales: Reduce o elimina las flatulencias y dispepsias
- Astringente: El aceite esencial ejerce una función de cicatrización de llagas o úlceras.

- Antifiaforético: Evita o controla la sudoración nocturna excesiva y la hipersudoración psicósomática.
- Mejora la función cerebral: Contribuye en la conservación de acetilcolina, que es uno de los principales neurotransmisores.
- Reducción de los síntomas menopáusicos: El aceite esencial de la salvia presenta una leve actividad estrogénica.
- Antibacterial y antiviral: Gracias a sus aceites esenciales inhiben diferentes virus DNA y RNA
- Higiene bucal: La hojas de salvia fresca ayuda a refrescar el aliento evitando la gingivitis (Hernández et al., 2012:pp 60-63)

#### ***1.6.4 Investigaciones Científicas***

Existen diversas investigaciones sobre la actividad antiinflamatoria que poseen diferentes especies de *Salvia*, entre las cuales podemos citar las realizadas por:

Milica Kostić y colaboradores, en el presente año realizaron un estudio sobre el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Salvia sclarea L.* en periodontitis inducida por lipopolisacáridos en ratas, los resultados obtenidos determinaron que la presencia del ácido rosmarínico en el extracto es el compuesto predominante que ejerce el efecto antiinflamatorio en la periodontitis inducidos por LPS. (Kostić et al., 2017:pp 52-59)

Valeria Dal Par y colaboradores en el año 2011 demostraron la actividad antiinflamatoria de *Salvia officinalis* al realizar un estudio de los extractos alcohólicos fraccionados de esta planta para determinar dicha actividad mediante la inhibición de peritonitis aguda inducida en animales de experimentación (ratas). Los resultados obtenidos indicaron que este extracto de *S.officinalis* podría ser utilizado como agente antiinflamatorio, esta actividad puede atribuirse a su alto contenido en compuestos fenólicos especialmente los flavonoides. (Dal Pra et al., 2011:pp 67-71)

Baricevid y colaboradores demostraron la actividad antiinflamatoria de *Salvia officinalis L.* utilizando animales de experimentación (ratones), al parecer el efecto es debido a la presencia del ácido ursólico y ácido oleanólico que son compuestos triterpénicos. La aplicación tópica de los extractos clorofórmico y hexánico inhibieron significativamente el edema inducido por aceite de Crotón en la oreja de los ratones. (Baricevic et al., 2001:pp 125-132)

Por otra parte Melgarejo R y colaboradores en el año de 2011 realizaron una investigación sobre efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis. Esta actividad se evaluó mediante un estudio cuantitativo, ciego, experimental del

tipo ensayo clínico en 33 alumnos de odontología de la Universidad del Desarrollo –Chile, los cuales fueron tratados con un placebo y extracto de *Salvia officinalis* en dentífrico y colutorios, el cual logro disminuir significativamente el índice gingival del grupo tratado. (Valenzuela et al., 2011:pp 110-113)

### ***1.7 Salvia quitensis***



**Figura 5 -1:** *Salvia quitensis*  
**Fuente:** (UDLA, 2016)

Es un arbusto endémico de los bosques andinos del Ecuador donde se conocen al menos 25 poblaciones, fue recolectada por primera vez en las faldas de la Provincia de Pichincha por el coronel inglés Francis Hall y el médico-botánico escocés William Jameson en el año de 1830. Por haber sido encontrada la planta en los alrededores de Quito en 1848 la nombraron como *Salvia quitensis*.

En los últimos años esta planta crece particularmente en las quebradas de los valles interandinos y los bordes de los caminos. La planta ha sido registrada en la Reserva Geobotánica Pululahua como un modo de conservación de la especie. (López et al., 2016:pp 89-93)

#### ***1.7.1 Distribución Geográfica***

Como esta especie es endémica generalmente crece en zonas andinas del país, sobre los 1000msnm, a esta especie se la encuentra principalmente las provincias de Pichincha, Chimborazo, Azuay y Cañar. (López , 2016:pp 89-93)

#### ***1.7.2 Morfología***

Crece generalmente en forma de arbustos con tallos angulares, sus hojas son enteras y dentadas, presentan inflorescencia en forma de racimos, los tallos florales forman brácteas distintas a la de las hojas basales, tienen un cáliz acampanado que está dividido en dos labios, sus flores son

tubulares de color magenta que las hace atractivas para que varias especies de colibrí puedan realizar sus funciones ecológicas. (Plantas nativas de la hoya de Quito , 2015)

### ***1.7.3 Usos populares***

Su uso más común tradicionalmente es la infusión de sus hojas para tratar la tos, dolor de garganta y pulmones, debido a los diferentes compuestos terapéuticos que esta especie posee, lo que se atribuye propiedades sedantes y antiinflamatorias

Por sus flores vistosas esta especie puede ser utilizada como ornamental en cercas vivas, parques y jardines. . (López et al., 2016:pp 89-93)

**Tabla 2-1:** Taxonomía *Salvia quitensis*

<b>TAXONOMIA</b>	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Genero	Salvia

**Fuente:** (Montúfar R, 2014)

**Elaborado por:** Priscila Rugel, 2017

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLOGICO

#### 2.1 Lugar de la Investigación

La presente investigación se llevó a cabo en las siguientes instalaciones académicas: Herbario, Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales, Laboratorio de Química Instrumental y Bioterio pertenecientes a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2 Recolección del material vegetal

El material vegetal (*Savia quitensis*) fue recolectado en las faldas de la montaña Cachahuai , parroquia Lizarzaburu, al nor-occidente de la ciudad de Riobamba, diagonal al reserva ecológica Ricpamba, dentro de las siguientes coordenadas geográficas:

Latitud: 1°40'16.6"S

Longitud: 78°40'44.5"W

#### 2.3 Reactivo Biológico

En la determinación de la actividad antiinflamatoria se utilizaron como reactivo biológico ratas albinas (*Rattus norvegicus*)

##### 2.3.1 Descripción

Peso: 200-250 mg

Edad: 2-3 meses

Sexo: Hembras

Lugar de Nacimiento: Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI)

##### 2.3.2 Condiciones ambientales

Temperatura: 25 ± 2°C

Humedad relativa: 45 ± 5%

Periodo de luz: 12 horas de luz -12 horas de oscuridad

Cama: Tamo de arroz previamente esterilizado con cambio cada 48 horas.

Alimentación: Ad libidum

## **2.4 Materiales, equipos y reactivos**

### **2.4.1 Materiales**

Balones de aforo de 10, 100, 250, 500 mL

Balón esmerilado de 500 mL

Vasos de precipitación 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL

Tubos de ensayo

Matraces

Probeta 50, 100, 250 y 1000 mL

Pipetas 1, 5 y 10 mL

Capsulas de porcelana

Crisoles

Espátula

Pizeta

Vidrio reloj

Termómetro

Barrilla de agitación

Gradilla

Picnómetros

Pipetas Pasteur

Embudo de bushner

Kitasato

Reverbero

Cuba cromatográfica

Capilares

Micro pipeta automática de 1000 uL y 100 uL

Trípodes

Papel filtro

Mechero

Mangueras

Soporte universal

Mortero y pistilo  
Puntas azules de 1000 uL  
Puntas amarillas 100 uL  
Envases de vidrio  
Jeringas de 3 y 5 mL  
Cánula  
Papel filtro  
Papel aluminio  
Algodón  
Mascarilla  
Guantes  
Gorro  
Cubre zapatos  
Jaulas para ratas

#### **2.4.2 Equipos**

Balanza analítica Radwag S 220.R2  
Rotavapor BUCHI CH-9230 FLAWIL-SCHWEIZ  
Mufla SNOL 8.2  
Molino Arthur H. Tomas  
Estufa RE 115  
Sonicador Cole-Parmer  
Desecador  
Bomba de vacío  
Refractómetro de Abbé  
Cámara UV  
pH-metro HANNA INSTRUMENT  
Congelador  
Vórtex  
Centrifuga Clay Adams  
Espectrofotómetro Cole-Parmer  
Cámara fotográfica

#### **2.4.3 Reactivos**

Alcohol al 96%

Agua destilada  
Éter dietílico  
Ácido acético  
Reactivo de Wagner  
Reactivo de Sudan III  
Reactivo de Baljet  
Reactivo de Fehling  
Reactivo de Dragendorff  
Hidróxido de sodio  
Magnesio metálico  
Ácido Clorhídrico  
Ácido sulfúrico  
Cloroformo  
Amonio al 5% agua  
Cloruro férrico  
Alcohol antiséptico  
Cloruro de sodio  
Alcohol amílico  
Metanol  
Acetato de etilo  
Sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck)  
Formol al 40%  
Cloruro de aluminio  
Ácido acético glacial  
Hidróxido de sodio al 1M  
Polietilenglicol  
Ácido gálico  
Nitrito de sodio al 5%  
Tricloruro de aluminio al 10%  
Estándar de quercetina  
Carbonato de sodio al 20%  
Reactivo de Folin-Ciocalteu 20%  
Solución de DPPH\* 60 uM  
Carragenina al 1%  
Solución de diclofenaco Sódico  
Solución de Carboximetilcelulosa  
Acido perclórico al 70%

Vainillina al 2%

## **2.5 Técnicas y Métodos**

### ***2.5.1 Comprobación Taxonómica***

La identificación y comprobación taxonómica de la planta *Salvia quitensis* se realizó en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo quien certifico el ejemplar.

### ***2.5.2 Acondicionamiento del material vegetal***

#### ***2.5.2.1 Secado***

Para la elaboración del extracto etanólico blando se utilizó únicamente las hojas de la planta *Salvia quitensis*, separando manualmente las hojas de la planta, desechando las hojas dañadas, decoloradas y que estén infectadas por insectos u hongos.

Se dejó secar todas las hojas bajo sombra a temperatura ambiente y en lugar seco durante tres semanas.

#### ***2.5.2.2 Molienda***

Se molió las muestras secas en un molino de cuchilla giratoria marca Arthur H. Thomas para obtener partículas menores a 3.0 mm, se almacenó y se conservó la muestra vegetal seca y molida a una temperatura no mayor a 30°C y un lugar seco.

### ***2.5.3 Control de Calidad de la materia prima***

Se efectuó mediante métodos gravimétricos, cuyo fundamento es la medición de la variación de la masa por causa de la pérdida de sustancias volátiles por acción del calor. Esta técnica se realizó en base a las Normas Ramales para Drogas crudas, extractos y tinturas, 1992.

#### ***2.5.3.1 Determinación de cenizas totales***

Se pesó 2g de la muestra seca y molida en una cápsula de porcelana previamente tarada, luego se colocó en la mufla a una temperatura de 700-750° C durante 2 horas.

Se enfrió en el desecador y se pesó, se repitió el proceso hasta obtener un peso constante.

Fórmula:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

C= Porcentaje de cenizas totales

M= Masa de la cápsula vacía en g

M<sub>1</sub>= Masa de la cápsula con la porción de ensayo en g

M<sub>2</sub>= Masa de la cápsula con la ceniza en g

100= factor matemático

#### 2.5.3.2 Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales obtenidas se le añadió de 15 a 20 mL de agua, se tapó la cápsula y se puso a hervir suavemente a la llama durante 5 minutos.

La solución obtenida se filtró a través del papel filtro. El filtro con el residuo se colocó en la cápsula inicial, se carbonizó en un mechero para luego proceder a incinerarlo en la mufla a una temperatura de 700-750°C por un tiempo de 2 horas.

Se enfrió en el desecador y se pesó, se repitió el proceso hasta obtener un peso constante.

Fórmula

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

Ca= Porcentaje de cenizas solubles en agua

M= Masa del crisol vacío en g

M<sub>1</sub>= Masa de la cápsula con la muestra en g

M<sub>2</sub>= Masa de la cápsula con las cenizas totales en g

Ma= Masa de la cápsula con las cenizas insolubles en agua en g

100= Factor matemático

#### 2.5.3.3 Determinación de cenizas insolubles en HCl

A las cenizas totales se le añadió de 15 a 20 mL de HCl al 10%. Se tapó la cápsula y se puso a hervir suavemente a la llama por 5 minutos, la solución obtenida se filtró a través del papel filtro, el residuo se lavó con agua caliente y se agregó 1 o 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M.

El papel filtro con el residuo se colocó en la cápsula inicial, se carboniza en el quemador y luego se colocó en la mufla a una temperatura de 500-550°C por un tiempo de 3 horas.

Se enfrió en el desecador hasta una temperatura ambiente y se pesó.

Fórmula:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100$$

C= Porcentaje de cenizas insolubles en HCl

M= Masa de la cápsula vacía en g

M1= Masa de la capsula con la muestra en g

M2= Masa de la cápsula con las cenizas con HCl en g

#### *2.5.3.4 Determinación de humedad*

Se colocó 2g de la muestra seca y triturada en una cápsula previamente tarada, se introdució en la estufa a una temperatura de 105°C por un lapso de 3 horas.

Se enfrió en desecador hasta temperatura ambiente y se pesó, se repitió el procedimiento hasta obtener un peso constante

Fórmula:

$$Hg = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Hg= Perdida en peso desecación en g

M= Masa de la cápsula vacía en g

M1= Masa de la cápsula con la muestra en g

M2= Masa de la cápsula con la muestra después del ensayo en g

100= Factor matemático

#### *2.5.4 Obtención del extracto alcohólico*

Se pesó 464.6g de planta seca y molida, se colocó en un matraz Erlenmeyer y se dejó macerar con suficiente cantidad de alcohol al 96% procurando que este solvente cubra completamente la planta. Se maceró durante 48 horas, a temperatura ambiente con agitación constante. Este procedimiento se repitió por 2 ocasiones con el mismo marco de la planta.

El extracto obtenido se filtró al vacío a través de un papel filtro y se llevó al Rotavapor a una temperatura no mayor a 60°C hasta eliminar todo el solvente.

El extracto etanólico blando obtenido se colocó en un recipiente de vidrio bien cerrado y se llevó a congelación.

### ***2.5.5 Tamizaje fitoquímico***

#### **Ensayo de Sudan**

Permite conocer la presencia de compuestos grasos, en una alícuota de la muestra se coloca 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III y se evapora el solvente mediante baño maría. Se considera positivo si existe la aparición de gotas o una película de color rojo en las paredes del tubo de ensayo.

#### **Ensayo de Dragendorff**

Este ensayo permite conocer la presencia de alcaloides, para ello se tomó una alícuota del extracto, si este se encuentra disuelto en un solvente orgánico debe evaporarse y al residuo se colocó 1 mL de HCl al 1% en agua, mientras que si el extracto es acuoso se debe colocar 1 gota de HCl concentrado, luego se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observa:

Opalescencia (+)

Turbidez definida (++)

Precipitado (+++)

#### **Ensayo de Mayer**

De igual forma se partió de la solución ácida y se añadió una pequeña cantidad de cloruro de sodio en polvo, se agitó y se filtró. Al filtrado añadimos 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y observar:

Opalescencia (+)

Turbidez definida (++)

Precipitado coposo (+++)

### **Ensayo de Wagner**

Se partió de la solución ácida y se añadió 2 o 3 gotas del reactivo de Wagner y se reportó los resultados de igual forma descrita en la reacción anterior.

### **Ensayo de Baljet**

Permite reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, especialmente cumarinas. Si la alícuota de la muestra no se encuentra en alcohol, se debe evaporar mediante baño maría todo el solvente, se colocó 1 mL de alcohol, en estas condiciones se colocó 1 mL del reactivo de Baljet observando la aparición de un precipitado o coloración rojo (++ y +++)

### **Ensayo de Lieberman-Buchard**

Permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides ya que ambos poseen un núcleo del androstano, habitualmente insaturado en el anillo B y en la posición 5-6.

Se tomó una alícuota del extracto, se evaporó el solvente y al residuo se le añadió 1 mL de cloroformo. Se colocó un 1 mL de anhídrido acético y se lo agitó bien, por la pared del tubo de ensayo luego se añadió 2 o 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se observó un cambio rápido de coloración:

Rosado-azul muy rápido

Verde intenso – visible aunque rápido

Verde oscuro y/o negro – final de la reacción

### **Catequinas**

Con la ayuda de un capilar se colocó una gota del extracto en un papel filtro, sobre la mancha se colocó la solución de carbonato de sodio. Se observó bajo luz UV la aparición de una mancha verde carmelita.

### **Resinas**

Se colocó 10 mL de agua destilada en 2 mL de la muestra del extracto, indicando un ensayo positivo la aparición de un precipitado.

### **Ensayo de Fehling**

Permite identificar la presencia de azúcares reductores, se evaporó el solvente y al residuo se añadió 1 o 2 mL de agua. Se colocó 2 mL del reactivo de Fehling se calienta a baño maría durante 5-10 minutos.

### **Ensayo de la espuma**

Permite identificar la presencia de saponinas en el extracto, como pueden ser de tipo esteroideal o triterpénica. La muestra se diluye con 5 veces más su volumen en agua y se agitó por un tiempo de 5-10 minutos, observando así la aparición de espuma persistente por más de 2 minutos.

### **Ensayo de cloruro férrico**

Permite identificar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. En una alícuota se colocó 3 gotas de tricloruro férrico al 5%, observándose:

Coloración verde intensa, presencia de taninos del tipo pirocatecólicos.

Coloración azul, presencia de taninos del tipo pirogalotánicos.

### **Ensayo de la ninhidrina**

Permite reconocer la presencia de aminoácidos libres o de aminas. Se colocó en una alícuota del extracto alcohólico 1 mL de la solución de ninhidrina al 2% y se calentó a baño maría durante 5-10 minutos. La presencia de una coloración azul violáceo nos dió un resultado positivo.

### **Ensayo de Shidona**

Permite identificar la presencia de flavonoides. Se tomó una alícuota del extracto alcohólico y se diluyó con 1 mL de HCl concentrado y un pedazo de cinta de magnesio metálico, se esperó por 5 minutos, y se añadió 1 mL de alcohol amílico y se dejó reposar hasta que las fases se separen.

### **Ensayo de antocianidinas**

Permite identificar la presencia de estructuras de secuencia  $C_6-C_3-C_6$  del grupo de los flavonoides. Se tomó 2 mL del extracto alcohólico y se calentó por un tiempo de 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado, se dejó enfriar y se añadió 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico, se

mezcló y se dejó separar las dos fases. Un resultado positivo del ensayo es la aparición de un color rojo en la fase amíllica.

### **Ensayo de mucilagos**

Permite identificar la presencia de polisacáridos. Se tomó una alícuota del extracto en agua, se enfrió a una temperatura de 0-5°C dando como resultado positivo la presencia de una consistencia gelatinosa.

### **Ensayo de principios amargos y astringentes**

Se saboreó una gota del extracto acuoso, reconociendo así el sabor de cada uno de estos principios.

#### ***2.5.6 Control de calidad del extracto alcohólico***

El control de calidad del extracto, se las realizo en base a las Normas Ramales Drogas Crudas. Extractos y Tinturas. (NRSP 309,311 Y 312). MINSAP 1992. El parámetro de calidad es:

- pH

#### ***2.5.7 Cromatografía en capa fina***

##### ***2.5.7.1 Análisis cromatográfico para flavonoides***

La detección de flavonoides se realizó según la técnica de cromatografía en capa fina de Hildebert Wagner y Sabine Bladt, 2001.

- Se pesó 0.02g del extracto blando y añadir 10 mL de alcohol al 96%
- Con la ayuda de un capilar se colocó 10 uL de la muestra en una placa cromatográfica de Sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) a un centímetro del borde inferior.
- Se dejó secar la muestra después de cada aplicación.
- Se colocó la placa en la cuba cromatográfica hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa. La fase móvil fue acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)
- Se retiró la placa de la cuba, dejándola secar por un momento y se observó en la cámara UV-254 nm

- Se reveló la placa con cloruro de aluminio al 1%, dejar secar y observó nuevamente en la cámara UV
- Para potenciar el revelado de la placa se utilizó Polietilenglicol al 2%. (Wagner y Bladt, 2001: pp. 195-210).

Cálculo

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

#### 2.5.7.2 Análisis Cromatográfico para triterpenos

Para la detección de triterpenos se realizó según la técnica descrita por Baricevic y Col, 2000.

- Se pesó 0.02g del extracto etanólico blando y se añadió 10 mL de alcohol al 96%
- Con la ayuda de un capilar se colocó 10 uL de la muestra en una placa cromatográfica de Sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) a un centímetro del borde inferior.
- Se dejó secar después de cada aplicación de la muestra
- Se colocó la placa en la cuba cromatográfica y se esperó hasta que el solvente recorra las ¾ partes de la placa. La fase móvil fue cloroformo: acetato de etilo (50:50).
- Se retiró la placa de la cuba, y se dejó secar por un tiempo.
- Se reveló la placa asperjando con el reactivo de vainillina al 2% en ácido perclórico al 50% y se procedió a calentar la placa en un mechero de 1 o 3 minutos hasta la aparición de los compuestos. (Ferrer et al, 2007:pp. 234-247)

#### 2.5.8 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales mediante un método colorimétrico

Este método fue realizado en base a la curva de calibración estándar de quercetina descrita por Hoda Salim Khamis Al-Jadidi y Mohammad Amzad Hossain ,2014. Para la cuantificación de flavonoides primero se realiza una curva de calibración con una solución estándar de quercetina a concentraciones comprendidas de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm.

El procedimiento que se realizó para la lectura de las absorbancias de cada una de las concentraciones del estándar y muestras fue el siguiente:

- A 100 uL de la muestra o de las soluciones patrones se le añadió 300 uL de  $\text{NaNO}_2$  al 5% p/v y 4 mL de agua destilada y se las dejó reposar por 5 minutos.
- A la mezcla se le agregó 300 uL de  $\text{AlCl}_3$  al 10% p/v y se la dejó reposar por 6 minutos.
- Se agregó 2 mL de  $\text{NaOH}$  1M y se dejó reposar por 5 minutos.
- Se leyó las absorbancias de todas las muestras en el espectrofotómetro a una  $\lambda = 510$  nm.
- Se trazó la curva de calibración
- Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de quercetina/mL de extracto

### **2.5.9 Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu**

La cuantificación de fenoles totales se realizó en base al método propuesto por Waterman y Mole (1994), para la cual se elaboró una curva de calibración con un estándar de ácido gálico a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. El procedimiento que se realizó para la lectura de las absorbancias de cada una de las concentraciones del estándar y muestras fue el siguiente:

- Se tomó 2 mL de la muestra o del estándar de ácido gálico y añadió 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu al 20%. Se dejó reposar por 5 minutos.
- A la mezcla se le añadió 5 mL de agua destilada y 0,5 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%, se dejó reposar 1 hora protegiéndola de la luz a una temperatura ambiente.
- Se leyó las absorbancias en el espectrofotómetro a una  $\lambda = 765$  nm
- Se trazó la curva de calibración.
- Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico/mL de extracto. (Hamdy, et al 2012: pp. 827-831).

### **2.5.10 Capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH\***

El ensayo del DPPH\* se basó en el método propuesto por Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995). Para realizar este ensayo es necesario realizar diluciones de la muestra del extracto para elaborar una curva donde se muestre la cinética de la reacción. Para las lecturas de las muestras se siguió el siguiente protocolo:

- Se tomó 100 uL de la muestra del extracto o de la solución estándar (ácido gálico)
- A la mezcla se añadió 3,9 mL de DPPH\* en metanol (60  $\mu\text{m}$ )
- Se agitó la mezcla con la ayuda de un vórtex y se dejó en reposo durante 1 hora fuera del alcance de la luz.

- Se leyó las absorbancias en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm, de la siguiente manera;
  - Metanol (para encerrar el equipo)
  - Muestra de DPPH\*
  - Blanco (3,9 mL metanol + 100 µL del solvente del extracto)
  - Patrón (diferentes concentraciones de ácido gálico)
  - Muestras (extracto de *Salvia quitensis*) (Grzegorzcyk, et al 2006: pp. 536-541).

### ***2.5.11 Evaluación de la actividad antiinflamatoria***

El método utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria fue mediante la prueba de edema plantar con carragenina propuesto por Winter Winter et al. (1962) y modificado por Sugishita et al. (1981). (Winter, 1962:pp. 544-547)

Este método consiste en la inyección de carragenina bajo la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata, lo que desencadena una reacción inflamatoria la misma que debe disminuir mediante la aplicación de sustancias antiinflamatorias. La mayoría de estos modelos experimentales se rigen solo a evaluar la actividad antiinflamatoria más no el mecanismo de acción que presenta el vegetal a estudiar.

Se utilizaron 24 ratas para este experimento las mismas que fueron elegidas al azar, siguiendo el siguiente protocolo:

#### ***2.5.11.1 Periodo de ambientación***

En esta etapa los animales de experimentación fueron sometidos a las mismas condiciones tales como:

- Temperatura:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$
- Humedad relativa:  $45 \pm 5\%$
- Periodo de luz: 12 horas de luz -12 horas de oscuridad
- Cama: Tamo de arroz previamente esterilizado con cambio cada 48 horas.
- Alimentación: Ad libidum
- Periodo de tiempo: 15 días

Todos los animales de experimentación se ambientan al investigador y a la técnica que se va a llevar a cabo durante la investigación

### 2.5.11.2 Modelo experimental

En esta etapa los animales de experimentación tuvieron pesos similares y fueron sometidos a 12 horas de ayuno, para una mejor absorción del extracto etanólico de *Salvia quitensis*.

En la siguiente tabla se muestra el esquema de ensayo utilizado para la determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Salvia quitensis*.

**Tabla 1-2:** Protocolo de la evaluación de la Actividad Antiinflamatoria “*in vivo*”

GRUPOS	REPETICIONES			
G1	R1	R2	R3	R4
G2	R1	R2	R3	R4
G3	R1	R2	R3	R4
G4	R1	R2	R3	R4
G5	R1	R2	R3	R4
G6	R1	R2	R3	R4

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

Donde:

G1= Control carragenina al 1%

G2= Referencia diclofenaco sódico 100mg/Kg

G3= Dosis equivalente de planta de referencia (matico) contenida en el extracto; 100mg/Kg

G4= Dosis equivalente de planta (*Salvia quitensis*) contenida en el extracto; 25mg/Kg

G5= Dosis equivalente de planta (*Salvia quitensis*) contenida en el extracto; 100mg/Kg

G6= Dosis equivalente de planta (*Salvia quitensis*) contenida en el extracto; 300mg/Kg

Para el volumen de dosificación de los extractos se realizó de acuerdo a la concentración y el peso de la rata. ANEXO L

La administración de los extractos etanólico blandos (*Salvia quitensis* y matico) como el medicamento de referencia (diclofenaco sódico) fue por vía oral con su vehículo respectivo carboximetilcelulosa , 30 minutos antes de la inducción del edema. Las mediciones del volumen de las patas se realizó 1, 2, 3, 4, 5,6 y 7 horas después de inducida la inflamación, por medio de fotografías. (Winter, 1962:pp. 544-547)

Para calcular el área de las patas de los animales de experimentación se utilizó el programa IMAGEJ en la cual se utilizó las fotografías de cada hora.

Una vez obtenido el resultado del área se procede a determinar el porcentaje de inflamación utilizando la siguiente formula

$$\%Inflamación = \frac{Vtx - Vto}{Vto} \times 100$$

Donde:

Vtx: Área de la pata inflamada a un tiempo X

Vto: Área normal (antes de aplicar carragenina)

#### *2.5.11.3 Análisis estadístico*

Para determinar el porcentaje de inflamación se utilizó el programa Microsoft office Excel 2013, mientras que en el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 22 en el cual se realizó el test ANOVA de un factor para determinar la diferencia significativa de los tratamientos, para comprobar esta diferencia se realizó el test de TukeyB indicándonos en donde se encuentra la variación de los datos.

#### *2.5.11.4 Planteamiento de la Hipótesis*

Ho: No existen diferencia significativa en los niveles del factor en la variable respuesta.  $p \geq 0,05$

H1: Existen diferencia significativa en los niveles del factor en la variable respuesta  $p < 0,05$

## CAPITULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1 Rendimiento de la obtención de extracto etanólico blando

**Tabla 1-3:** Resultado del porcentaje de rendimiento del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*.

DATOS	<i>Salvia quitensis</i>
Peso(Planta seca y molida)	464.6
Peso (Extracto blando total)	50.0515
%Rendimiento	10.77%

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

El porcentaje de rendimiento de la planta se calculó a partir de la cantidad pesada de la muestra seca y triturada en relación con la cantidad total del extracto etanólico blando obtenido luego de que la cantidad de muestra de la planta seca y molida sea sometida a una maceración con alcohol al 96% para posteriormente someterla a un rotavapor para eliminar todo el solvente que esta contenía quedándonos así el extracto etanólico blando. Este porcentaje de rendimiento es el resultado de las tres maceraciones sucesivas que se realizó con la misma muestra.

#### 3.2 Análisis fisicoquímico de la droga cruda

El control de calidad de las drogas vegetales permite determinar la composición de la droga cruda y la contaminación microbiológica presente en la planta para la cual se desarrollan métodos de lavado y desinfección del material vegetal que son aprobados por la Organización Mundial de Salud (OMS). (Acosta et al, 2012:pp. 101-107)

Primero se realizó una comprobación taxonómica macro-morfológica de la droga vegetal, se tomó en cuenta el color y el estado de la planta, descartando las partes deterioradas. Finalmente se procedió a realizar el control de calidad de la droga cruda seca y molida, las especificaciones establecidas para este ensayo están dadas por la Real Farmacopea Española, 2002.

**Tabla 2-3:** Parámetros control de calidad de la droga cruda *Salvia quitensis*

PARÁMETROS	RESULTADOS %	ESPECIFICACIONES
	Extracto <i>Salvia quitensis</i>	
Determinación de cenizas totales	4,4384 ± 0,5606	5%
Determinación de cenizas solubles en agua	1,6885 ± 0,0743	2%
Determinación de cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico	0,9273 ± 0,0755	1%
Determinación de Humedad	9,6762 ± 0,4990	14%

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

Los datos obtenidos en el tabla 2-3 nos muestran los porcentajes de los parámetros físico-químicos de la materia vegetal como son: cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico y humedad, estos resultados se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Real Farmacopea Española, 2002, por ende nos indica que la droga cruda de *Salvia quitensis* cumple con las especificaciones requeridas para garantizar la calidad de la droga cruda.

### 3.3 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico permite determinar la presencia o ausencia de los principales metabolitos secundarios presentes en la planta como son: fenoles, saponinas, flavonoides, esteroides-triterpenos, quinonas, taninos, alcaloides, cumarinas, glucósidos entre otros; cada uno de estos metabolitos están relacionados en cierta forma con actividades terapéuticas. Es un ensayo cualitativo, rápido, con reacciones sensibles, reproducible, es decir generan una reacción de color o precipitado como respuesta. (Beltrán et al, 2013:pp. 619-631)

Los resultados del estudio fitoquímico de la planta *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum* se los puede apreciar en las siguientes tablas:

**Tabla 3-3:** Resultados Tamizaje Fitoquímico de *Salvia quitensis*

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

**Interpretación:** (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

**Tabla 4-3:** Resultados Tamizaje Fitoquímico de *Eupatorium glutinosum*

ENSAYO	TIPO METABOLITO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Sudan	Aceites y Grasas			
Dragendorff	Alcaloides	-		+
Mayer	Alcaloides	-		-
Wagner	Alcaloides	-		+
Baljet	Cumarinas	-	-	
Liebermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	+	+	

Catequinas	Catequinas		+	
Resinas	Resinas		+	
Fehling	Az. Reductores		-	-
Espuma	Saponinas		-	-
Cl <sub>3</sub> Fe	Fenoles y Taninos		+	+
Borotrager	Quinonas			
Shinoda	Flavonoides		+	-
Antocianidina	Flavonoides		++	
Ninhidrina	Aminoácidos		-	
Mucílagos	Polisacáridos			-
Principios amargos	Principios amargos			-/+

**Interpretación:** (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia.

**Elaborado por:** Priscila Rugel, 2017

De acuerdo con las tablas 3-3 y 4-3, donde se exponen los metabolitos secundarios encontrados tanto en el extracto de *Salvia quitensis* como en el extracto de *Eupatorium glutinosum*, respectivamente; se obtuvieron respuestas positivas para diversos compuestos químicos entre los que se destacan: Flavonoides, triterpenos/esteroides, fenoles, alcaloides, taninos, resinas y saponinas.

Estos metabolitos fueron encontrados con mayor evidencia en el extracto alcohólico, lo que justifica el porqué de haber utilizado un extracto etanólico blando para el estudio.

Los compuestos que más se destacan y más importancia tienen en esta investigación son los flavonoides y los triterpenos ya que a estos metabolitos se le atribuye la actividad antiinflamatoria que poseen estas plantas.

Realizando una comparación entre estos dos extractos alcohólicos se puede observar que en el extracto de *Salvia quitensis* existe una baja evidencia de flavonoides y una alta evidencia de triterpenos, mientras que en el extracto de *Eupatorium glutinosum* existe una evidencia clara de flavonoides y una baja evidencia de triterpenos, lo que quiere decir que en el caso de *S. quitensis* los compuestos que ejercen la mayor actividad antiinflamatoria serían los triterpenos mientras que en el caso de *E. glutinosum* sería la presencia de flavonoides.

En lo que concierne a los resultados obtenidos de *S. quitensis* no existe referencia bibliográfica de dicha especie, sin embargo estos metabolitos coinciden con los metabolitos encontrados por MSc. Ester Sánchez Govín, 2005, donde realizaron una Caracterización Farmacognóstica de

*Salvia officinalis L.* que es una de las especies más representativa de las Salvias y a su vez la más estudiada y analizada a nivel mundial. . (Sánchez et al., 2010:pp 234-356)

Estos metabolitos también coinciden con los encontrados por Roxana de la C. Sierra Pérez, 2011 donde realizó un estudio del Análisis fitoquímico de *Salvia coccinea* que crece en cuba, estudio que aportó con datos nuevos sobre la composición química de esta especie, se encontraron compuestos tales como flavonoides, fenoles, alcaloides y taninos, azúcares y grupos aminos. (Sierra et al., 2011:pp 54-59)

Armando Payo y Colaboradores en el año 2000, realizaron una Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Holguín, en donde analizaron una planta similar a la del presente estudio que fue *Salvia cubensis Britt.* Obteniendo como resultado la presencia de compuestos tales como flavonoides, esteroides y triterpenos, taninos, aminas y cumarinas en el extracto alcohólico de la planta. (Payo et al, 2000:pp. 134-138)

Estos metabolitos presentes en la planta de estudio también coinciden con los compuestos encontrados por Fernando Cely en el año 2014 donde encontró la presencia de flavonoides fenoles, triterpenos/ esteroides y taninos en el extracto etanólico de *Salvia leucantha* al evaluar la capacidad antioxidante de dicha planta. (Cely et al., 2014:pp 68-79)

En lo que respecta al análisis fitoquímico de *Eupatorium glutinosum* los metabolitos encontrados en el ensayo coinciden con los metabolitos encontrados por Paulina Cruz, 2009 en el cual realizó una elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para NEO-FÁRMACO. Los metabolitos encontrados en el extracto de matico fueron alcaloides, resinas, triterpenos y flavonoides, encontrándose con mayor evidencia la presencia de estos dos últimos compuestos (Cruz 2009:pp 107-108)

### **3.4 Control de calidad del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*.**

El control de calidad del extracto blando etanólico de *Salvia quitensis* se realizó en base a la Norma Ecuatoriana (Obligatoria) “Fitoterápicos: Droga cruda”. (Dehesa, 2012:pp. 139-151)

**Tabla 5-3:** Resultado del pH del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*

PARAMETROS	RESULTADOS
pH	4,75±0,0889

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En la tabla 5-3 se muestra el pH obtenido del extracto etanólico blando de *S. quitensis*, dándonos como resultado 4.75 el cual es un poco ácido, lo que indica que los metabolitos presentes en el extracto etanólico blando de *Salvia quitensis* tales como flavonoides, compuestos grasos y alcaloides no se modifican manteniendo así la solubilidad y estabilidad del extracto. (Cañigual et al, 2013:pp. 265-278)

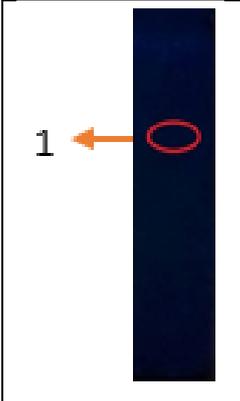
### 3.5 Cromatografía en capa fina del extracto etanólico blando

El análisis Cromatográfico en capa fina, permite determinar e identificar los posibles metabolitos que se encuentren presentes en los extractos.

#### 3.5.1 Análisis Cromatográfico para flavonoides

La fase móvil que se utilizó para la identificación de flavonoides tanto en *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum* fue de: acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26); como revelador Cloruro de aluminio 1% y potenciador Polietilenglicol 2%.

**Tabla 6 -3:** Posibles compuestos flavonólicos identificados en el extracto etanólico blando *Salvia quitensis*

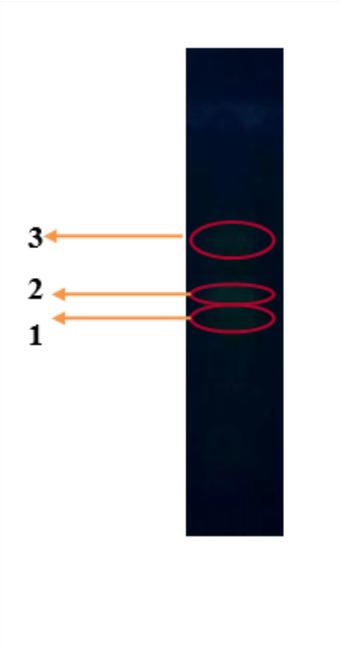
	Manchas observadas	Calculo Rf	Posible Compuesto Identificado
1	1	$Rf=6.4/8.5= 0.75$	Quercetina

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

Al examinar el análisis cromatográfico del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*, se pudo observar en la placa de sílica gel la presencia de 1 mancha bien definida con una coloración café. En tabla 6-3 muestra la distancia recorrida y el posible compuesto presente en el extracto de la planta, para realizar su identificación el Rf obtenido 0.75 fue comparado con los Rf citados

bibliográficamente en Wagner y Sabine Bladt, 2001. Este valor es similar al Rf de Quercetina el mismo que va de 0.70-0.80. %. (Wagner y Bladt, 2001: pp. 195-210).

**Tabla 7-3:** Posibles compuestos flavonóicos identificados en el extracto etanólico blando *Eupatorium glutinosum*

	Manchas observadas	Rf Practica	Posible Compuesto Identificado
	1	$Rf=3.2/8.5= 0.47$	-----
	2	$Rf=4.1/8.5= 0.51$	Ácido Clorogénico
	3	$Rf=5/8.5= 0.63$	Hiperosido (Derivado de quercetina)

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

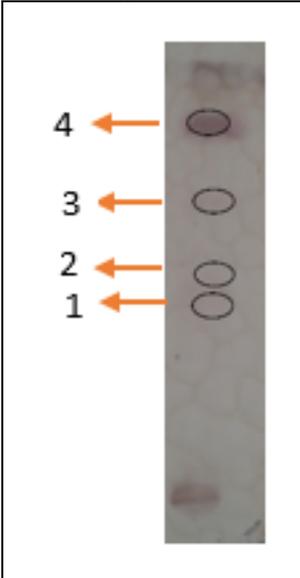
En el análisis cromatográfico del extracto etanólico blando de *Eupatorium glutinosum*, se pudo observar en la placa de sílica gel la presencia de 3 manchas bien definidas con una coloración que varía de amarillo a café.

En la tabla 7-3 se observa la distancia recorrida de los posibles compuestos presentes en el extracto etanólico de la planta, para su identificación los Rf obtenidos 0.51 y 0.63 fueron comparado con los Rf citados bibliográficamente en Wagner y Sabine Bladt, 2001. Los valores obtenidos son similares al Rf del Ácido clorogénico e Hiperosido (derivado de quercetina) respectivamente como indica en la bibliografía. %. (Wagner y Bladt, 2001: pp. 195-210).

### 3.5.2 Análisis Cromatográfico para triterpenos

La fase móvil que se utilizó para la identificación de triterpenos para *salvia quitensis* fue: cloroformo: acetato de etilo (50:50); como revelador vainillina al 2% en ácido perclórico al 50%.

**Tabla 8-3:** Posibles compuestos triterpénicos identificados en el extracto etanólico blando *Salvia quitensis*

	<b>Manchas observadas</b>	<b>Calculo Rf</b>	<b>Posible Compuesto Identificado</b>
	1	Rf=3.5/7.3= 0.48	-----
	2	Rf=4.2/7.3=0.58	Ácido rosmarínico
	3	Rf=5.0/7.3=0.68	Ácido ursólico
	4	Rf=6.8/7.3=0.93	Ácido oleanólico

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En la placa de sílica gel se observó la presencia de 4 manchas bien definidas con una coloración que varía de amarillentos y violáceos.

Según los Rf obtenidos 0.58, 0.68 y 0.93 para la fracción triterpénica de *S. quitensis* los posibles compuestos identificados son: Ácido rosmarínico, Ácido ursólico y Ácido oleanólico respectivamente, los mismos que coinciden con una investigación realizada por Serrano y colaboradores en el año 2016, que realizaron la cuantificación de estos compuestos en tres especies peruanas de *Clinopodium* perteneciente a la familia Lamiaceae, en donde establecen que los Rf para los compuestos triterpénicos son; 0.52, 0.64 y 0.90 respectivamente. (Serrano et al, 2012: pp. 333-350).

### 3.6 Cuantificación de flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides totales se utilizó una solución estándar de quercetina a diferentes concentraciones de 20, 40, 60,80 y 100 ppm con la cual se realizó una curva de calibración, obteniéndose la ecuación de la recta de:  $y=0,0009+0,0066x$  y un coeficiente de relación  $R^2=0,9991$

Se realizaron diluciones de los extractos con la finalidad de que las absorbancias obtenidas se encuentren dentro de la curva de calibración. Los resultados se encuentran reportados en la tabla 10-3 expresados en mg equivalentes de quercetina /mL de extracto y en porcentaje. Las interpolaciones en la curva de calibración para las disoluciones de las muestras se encuentran representadas en el ANEXO P

**Tabla 9-3:** Resultados Cuantificación flavonoides totales del extracto etanólico blando *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum*

<b>Extractos</b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>mg equivalentes de quercetina/mL de extracto</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>Salvia quitensis</i>	2000 ppm	5,217 mgEQ/mL	0,522 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1000 ppm	4,585 mgEQ/mL	0,459 %

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En lo que se refiere a la cuantificación de flavonoides totales se determinó que el extracto etanólico de *Salvia quitensis* a una concentración de 2000 ppm, presenta un valor de 5,217 mgEQ/mL lo que representa un porcentaje de 0,522%, mientras que el extracto etanólico de *Eupatorium glutinosum* a una concentración de 1000 ppm obtuvo un valor de 4,585 mgEQ/mL y un porcentaje de 0,459%. Esta variación de concentraciones en ppm se debe a que los extractos fueron sometidos a diferentes diluciones, esto permitió que las absorbancias obtenidas puedan estar dentro de la curva de calibración estándar de quercetina.

En lo que se refiere a la cuantificación de flavonoides totales para *Salvia quitensis* no existe referencias bibliográficas, sin embargo Mehmet Torun y Colaboradores en el año 2014, realizaron una investigación que consistía en determinar la concentración de extracto de *Salvia fruticosa* Miller utilizando proceso de membrana, donde obtuvieron un contenido de flavonoides totales de 7,746 mgEQ/mL, cuyos resultados superan a la concentración de la especie en estudio. (Torun et al, 2014:pp. 1-26)

En lo que concierne a la cuantificación de flavonoides totales para *Eupatorium glutinosum*, el resultado 4,585 mgEQ/mL es superior a 0,0201mgEQ/mL, resultado obtenido en una investigación realizada por Brenda Valle y Albino Yanac en el año 2014 en la Universidad de Trujillo-Perú.

Estas variaciones podrían deberse a las distintas condiciones ambientales, el hábitat y la actividad enzimática de la composición de las hojas de cada una de las plantas. (Valle y Albinol, 2014: pp. 15-25).

### 3.7 Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

Para la cuantificación de fenoles totales de los extractos, se elaboró una curva de calibración utilizando una solución estándar de ácido gálico a concentraciones de 20, 40, 60,80 y 100 ppm, obteniendo una ecuación de la recta de  $y= 0,0005+0,1925x$ , cuyo coeficiente de correlación de  $R^2=0,9820$

Para esta cuantificación se realizaron diluciones de los extractos con el fin de que las absorbancias obtenidas se encuentren dentro de la curva de calibración. Los resultados se encuentran reportados en la tabla 11-3 expresados en mg equivalentes de ácido gálico /mL de extracto y en porcentaje. Las interpolaciones en la curva de calibración para las disoluciones de las muestras se encuentran representadas en el ANEXO Q

**Tabla 10-3:** Resultados Cuantificación de fenoles totales del Extracto etanólico blando *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum*

Extractos	Concentración ppm	mg equivalentes de ácido gálico/mL de extracto	Porcentaje
<i>Salvia quitensis</i>	667 ppm	105,446 mgEQ/mL	10,545 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1111 ppm	43,663 mgEQ/mL	4,366 %

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En la cuantificación de fenoles totales de los extractos etanólicos, el extracto de *S. quitensis* a una concentración de 667 ppm presentó un valor de 105,446 mgEQ/mL del extracto lo que representa un porcentaje de 10,545 %, mientras que el extracto de *E. glutinosum* a una concentración de 1111 ppm presente un valor de 43,663 mgEQ/mL y 4,366 %. De igual forma para este ensayo se realizaron diferentes diluciones para que las absorbancias de los extractos puedan entra dentro de la curva de calibración estándar de ácido gálico.

No existen referencias bibliográficas acerca de la cuantificación de fenoles totales de *Salvia quitensis*, pero en el año 2014 Mehmet Torun y Colaboradores en la misma investigación descrita anteriormente, también obtuvieron una concentración de fenoles totales de *Salvia fruticosa Miller*. El resultado fue de 9,383mgEQ/mL cuyo valor es inferior al resultado obtenido en esta investigación. (Torun et al, 2014:pp. 1-26)

Mohamed Hussein Hamdy Roby y colaboradores en el año de 2012 realizaron una investigación de la Evaluación de la actividad antioxidante, fenoles totales y compuestos fenólicos en los extractos de *Thymus vulgaris L*, *Salvia officinalis L*, y *Origanum majorana*. El resultado de la cuantificación de fenoles totales de *S. officinalis L* fue de 18.24 %, lo que indica que existe una mayor cantidad de fenoles totales en esta especie a diferencia de la planta *S. quitensis*. (Hamdy, et al 2012: pp. 827-831).

Estos resultados nos indican que a pesar de ser estas plantas de la misma especie pueden existir variaciones en la concentración de compuestos fenólicos debido a las condiciones ambientales, el hábitat o la composición química de cada una de las plantas.

En lo que se refiere a *Eupatorium glutinosum* no existen referencias bibliográficas sobre cuantificación de fenoles totales con lo cual el resultado no podría ser comparado, ya que esta planta al ser una especie nativa de nuestro país es muy poco estudiada e investigada y por ende no existe información suficiente para sustentar los resultados obtenidos.

### 3.8 Determinación de la capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH\*

La determinación de la capacidad antioxidante de cada uno de los extractos etanólicos blandos de *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum* se determinó mediante el método del DPPH\*, el cual es un método reproducible, fácil de realizar, su costo no es muy elevado y no emplea mucho tiempo.

La capacidad captadora de radicales libres se encuentra relacionada con el contenido de fenoles y flavonoides totales, mientras presente mayor cantidad de estos compuestos existirá mayor capacidad antioxidante.

**Tabla 11-3:** Resultados de la determinación de la capacidad captadora de radicales libres del extracto etanólico blando *Salvia quitensis* y *Eupatorium glutinosum*

Extractos	Concentración ppm	Concentración inhibitoria (µg/mL)	Porcentaje de ACRL
<i>Salvia quitensis</i>	667 ppm	18,952 µg/mL	25,50 %
<i>Eupatorium glutinosum</i>	1111 ppm	85,359 µg/mL	114,85 %

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En la determinación de la capacidad captadora de radicales libres la tabla 12-3 muestra los resultados del extracto de *Salvia quitensis* con una concentración de 667 ppm presenta una concentración inhibitoria de 18,952 µg/mL con un porcentaje ACRL de 25,50 %, mientras que el extracto de *Eupatorium glutinosum* a una concentración de 1111 ppm se obtiene una concentración inhibitoria de 85,359 µg/mL, y 114,85% de ACLR.

La variación de concentraciones en ppm se debe a que los extractos fueron sometidos a diferentes diluciones, para que las absorbancias obtenidas puedan estar dentro de la curva de calibración estándar de ácido gálico. Los valores obtenidos de la capacidad captadora de radicales libres están relacionados directamente con la cantidad de flavonoides y fenoles totales que presenten cada extracto, ya que estos metabolitos son los responsables de ejercer el efecto antioxidante.

No se encontraron referencias bibliográficas sobre la actividad antioxidante de *Salvia quitensis*, sin embargo existen algunas investigaciones en las que se determinó la capacidad captadora de radicales libres de *Salvia officinalis* L que es una especie de composición química similar a la planta en estudio, esta investigación fue realizada por Rodríguez y colaboradores en el año 2012 el cual consistía en determinar el rendimiento y capacidad antioxidante del extracto de *Salvia officinalis* L obtenido con CO<sub>2</sub> supercrítico. En esta investigación se obtuvo como resultado un porcentaje del 76% de actividad antioxidante de *Salvia officinalis* L, por lo cual se concluye que la especie *Salvia quitensis* al presentar un 25,50% quizás presente compuestos flavonóicos y fenólicos que posean menor actividad captadora de radicales libres a diferencia de la especie *Salvia officinalis* L. (Rodríguez, et al 2012: pp. 305-315).

Mouna Ben Farhat y colaboradores en el año 2013 realizaron una investigación sobre caracterización y cuantificación de compuestos fenólicos antioxidantes y propiedades de *Salvia* especies que crecen en diferentes hábitats, en donde la especie *Salvia argentea* obtuvo el mayor resultado que fue de 77,07 µg/mL el cual es un valor muy superior al obtenido de *Salvia quitensis*. (Farhat, et al 2013: pp. 904-914).

Estos resultados van a depender de la complejidad química de la mezcla de compuestos en cada planta, es decir dependerá de la polaridad y comportamiento químico de cada compuesto.

En lo que se refiere a *Eupatorium glutinosum* no existen referencias bibliográficas sobre la capacidad captadora de radicales libres por lo cual el resultado no podría ser comparado, ya que esta planta al ser una especie nativa de nuestro país existe muy poca información sobre ella y son muy poco estudiadas e investigadas.

### 3.9 Actividad antiinflamatoria

#### 3.9.1 Resultados de la administración de los extractos

En este estudio se analizaron los extractos etanólicos blandos de *Salvia quitensis* a diferentes concentraciones para determinar su actividad antiinflamatoria y conocer en que dosis presenta mayor actividad, todos los extractos fueron probados en animales de experimentación (ratas albinas) en las que se les produjo un edema en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha utilizando carragenina. Como se mencionó anteriormente todos los extractos fueron administrados por vía oral acompañado de un vehículo que fue carboximetilcelulosa al 10%, igual que los grupos control (blanco, diclofenaco sódico y extracto de *Eupatorium glutinosum*). Se realizaron las mediciones del área del edema plantar de cada una de las ratas, con la ayuda del programa ImageJ, el mismo que nos permite obtener valores cuantitativos.

**Tabla 12-3:** Resultados de la inflamación de los diferentes tratamientos expresados como área de inflamación en cm<sup>2</sup>.

HORAS	PROMEDIO ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR TRATAMIENTOS					
	BLANCO	Diclofenaco Sódico 100mg/Kg	<i>Eupatorium glutinosum</i> 100mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 25 mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 100 mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 300 mg/Kg
<b>Patrón</b>	2,3525 ± 0,0439	2,4148 ± 0,0638	2,4240 ± 0,1315	2,4833± 0,1377	2,4168± 0,1206	2,5340 ± 0,1567
<b>H0</b>	2,3775 ± 0,0413	2,4883 ± 0,1105	2,4608 ± 0,1569	2,5605± 0,1635	2,4785± 0,0912	2,6403 ± 0,1509
<b>H1</b>	2,4540 ± 0,1039	2,5308 ± 0,1227	2,5263 ± 0,1333	2,6188± 0,1460	2,5303± 0,0634	2,6653 ± 0,1447
<b>H2</b>	2,5433 ± 0,1203	2,6138 ± 0,0668	2,6180 ± 0,1374	2,7060± 0,2228	2,6060± 0,0550	2,7988 ± 0,2353
<b>H3</b>	2,5795 ± 0,1287	2,6518 ± 0,0702	2,6730 ± 0,1388	2,8120± 0,2041	2,7218 ± 0,0517	2,8693 ± 0,2223
<b>H4</b>	2,6505 ± 0,1073	2,6233 ± 0,0604	2,6523 ± 0,1377	2,7790± 0,2140	2,6448 ± 0,0514	2,7510 ± 0,1139
<b>H5</b>	2,6670 ± 0,1081	2,5765 ± 0,0422	2,6063 ± 0,1624	2,7020± 0,1535	2,5668± 0,0982	2,7120 ± 0,1282
<b>H6</b>	2,6785 ± 0,0735	2,5465 ± 0,0625	2,5528 ± 0,1751	2,6698± 0,1798	2,5728± 0,0765	2,6940 ± 0,1054
<b>H7</b>	2,7080 ± 0,0919	2,4838 ± 0,0402	2,5015 ± 0,1548	2,6458± 0,1516	2,5278 ± 0,0872	2,6145 ± 0,1435

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

Con respecto a los valores obtenidos del área de la pata por el edema y su efecto, con las repeticiones que se han realizado se ha valorizado la desviación estándar, en la cual la hora 2,3 y 4 del tratamiento de *Salvia quitensis* 100 mg/Kg y en la hora 2 y 3 del tratamiento de *Salvia quitensis* 300 mg/Kg existe una desviación mayor, lo que quiere decir que hay una posible diferencia significativa en los tratamientos que se ha realizado.

En la tabla 12-3 se observa que las áreas del control positivo (diclofenaco sódico) y el extracto de referencia (*Eupatorium glutinosum*) presentan datos similares a diferencia de los demás tratamientos aplicados. Los tratamientos de diclofenaco sódico, extracto de *Eupatorium glutinosum* y el extracto de *Salvia quitensis* en sus diferentes dosis aplicadas presentan su punto máximo de inflamación a en la hora 3, la cual va disminuyendo a medida que pasa el tiempo. El grupo tratado solo con carragenina al 1% presentan su punto máximo de inflamación en la hora 4, la cual va aumentando a medida que pasa el tiempo.

### 3.9.2 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos anteriormente de las diferentes áreas se aplicó la fórmula descrita en metodología para calcular el porcentaje de inflamación de cada uno de los grupos tratantes. Para la elaboración de la gráfica (% Inflamación Vs Tiempo) se utilizó el programa Microsoft Office Excel 2013, esta gráfica representa de manera general el porcentaje de inflamación de todos los grupos tratantes aplicados en función del tiempo (horas).

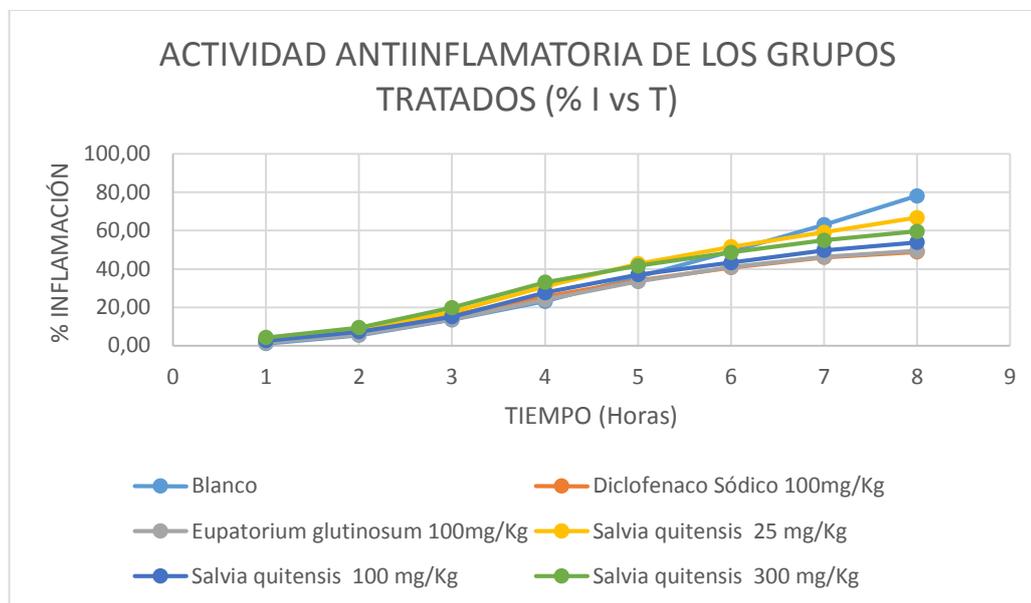
El análisis estadístico fue realizado mediante el programa SPSS versión 22 en el cual se aplicó el test de ANOVA de un factor, para poder determinar si existe o no diferencias significativas entre los tratamientos y por lo tanto poder aceptar o rechazar la hipótesis nula

**Tabla 13-3:** Resultados de la actividad antiinflamatoria expresado en porcentaje de inflamación.

TIEMPO	BLANCO	Diclofenaco Sódico 100mg/Kg	<i>Eupatorium glutinosum</i> 100mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 25 mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 100 mg/Kg	<i>Salvia quitensis</i> 300 mg/Kg
T0	1,0627	3,0031	1,5161	3,1212	2,5445	4,1930
T1	5,3773	7,7426	5,7343	7,1788	7,2300	9,3725
T2	13,4857	15,8733	13,7376	13,1393	15,0496	19,8204
T3	23,1350	25,5567	24,0099	23,7716	27,6583	33,0505
T4	35,8023	34,0756	33,4262	34,1824	37,0811	41,6140

T5	49,1711	40,6844	40,9447	44,6436	43,2768	48,6385
T6	63,0287	46,0674	46,2562	54,0475	49,7207	54,9526
T7	78,1403	48,8866	49,4534	63,0487	53,8374	59,6586

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017



**Gráfico 1 -3:** % Inflamación Vs Tiempo de los grupos tratados

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

En el gráfico 1-3 se observa que el porcentaje acumulativo de inflamación de todos los grupos tratados se encuentran por debajo del porcentaje de inflamación del blanco es decir que todos los tratamientos de una u otra manera presentaron una actividad antiinflamatoria.

El porcentaje de los grupos control, blanco, fármaco de referencia (Diclofenaco sódico) y extracto de referencia (*E. glutinosum*) fue de 78,1403 %, 48,8866% y 49,4534% respectivamente, mientras que los porcentajes de las tres dosis del extracto de *S. quitensis* a una concentración de 25mg/Kg, 100mg/kg y 300mg/kg fue de 63,0487%, 53,8374% y 59,6586% respectivamente.

En lo que se refiere a la planta en estudio al comparar el porcentaje de inflamación de las tres dosis administradas de *Salvia quitensis* 25 mg/Kg, 100 mg/Kg y 300 mg/Kg se observa que menor porcentaje de inflamación presenta la dosis de 100mg/kg, cuyo porcentaje fue de 53.83%, ya que este resultado se asemeja o se acerca al porcentaje de los grupos control, como son fármaco de referencia 48.88% y del extracto de referencia 49.45%, lo que quiere decir que a esta concentración se obtendrá una mayor eficacia de la actividad antiinflamatoria.

### 3.9.2.1 Análisis estadístico de correlación de tiempo-tratamiento

**Tabla 14-3:** Test ANOVA de un factor para los diferentes tratamientos

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
VARIABLE_30min	Entre grupos	.151	5	.030	2.207	.099
	Dentro de grupos	.246	18	.014		
	Total	.397	23			
VARIABLE_1hora	Entre grupos	.100	5	.020	1.594	.212
	Dentro de grupos	.225	18	.013		
	Total	.325	23			
VARIABLE_2hora	Entre grupos	.147	5	.029	1.698	.186
	Dentro de grupos	.312	18	.017		
	Total	.460	23			
VARIABLE_3hora	Entre grupos	.194	5	.039	2.355	.082
	Dentro de grupos	.297	18	.017		
	Total	.492	23			
VARIABLE_4hora	Entre grupos	.060	5	.012	1.197	.350
	Dentro de grupos	.179	18	.010		
	Total	.239	23			
VARIABLE_5hora	Entre grupos	.107	5	.021	1.663	.195
	Dentro de grupos	.232	18	.013		
	Total	.340	23			
VARIABLE_6hora	Entre grupos	.122	5	.024	2.325	.085
	Dentro de grupos	.189	18	.010		
	Total	.311	23			
VARIABLE_7hora	Entre grupos	.224	5	.045	4.570	.007
	Dentro de grupos	.176	18	.010		
	Total	.400	23			

Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

La tabla 14-3 indica la aplicación del test ANOVA de un factor, el cual establece si existe o no diferencias significativas en las mediciones del tiempo para cada tratamiento con un grado de confiabilidad del 95%, esta diferencia significativa se determina cuando  $p < 0,05$ .

Se observa que  $p < 0,05$  solo en la variable\_ 7hora, por lo que se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alternativa ( $H_i$ ) para esta hora y se procede a realizar un análisis de TukeyB

para conocer cuáles es la diferencia significativa en cada uno de los tratamientos para esta variable.

**Tabla 15-3:** Prueba de TukeyB para la séptima hora

VARIABLE_7hora				
	Dosis_extracto	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
Tukey B <sup>a</sup>	Diclofenaco100mg	4	2.48375	
	E. glutinosum100mg	4	2.50150	2.50150
	S. quitensis100mg	4	2.51650	2.51650
	S. quitensis 300mg	4	2.65325	2.65325
	S. quitensis 25mg	4		2.70650
	Blanco	4		2.70800

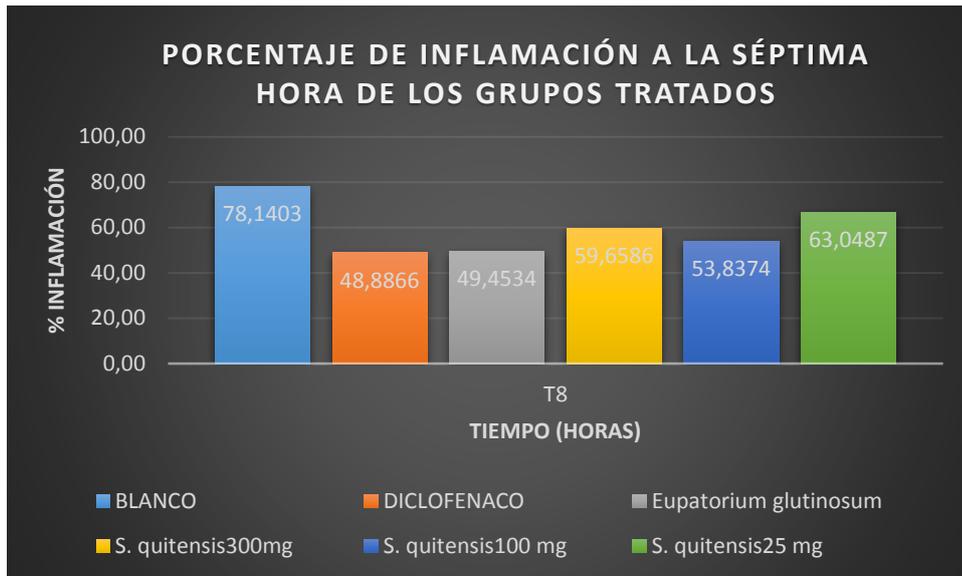
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

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

**Elaborado por:** Priscila Rugel, 2017

Al obtener el valor de la diferencia significativa en cada una de las variables, solo una variable demostró que  $p < 0,05$  con un valor de 0,007 perteneciente a la Variable\_7hora es por ello que se procede a realizar el análisis de TukeyB para comprobar la diferencia significativa que existe en los diferentes tratamientos.

Como se puede observar en la tabla 15-3 existen dos subconjuntos con respecto al análisis de la diferencia significativa entre los datos de cada tratamiento, en los cuales el valor de diclofenaco sobresale a diferencia de los otros tratamientos por tener menor porcentaje de inflamación ya que es un fármaco con actividad comprobada, mientras tanto la dosis de 25mg/Kg es la que presenta menor efecto en comparación de las otras dosis y su valor se aproxima al blanco.



**Gráfico 2 -3:** Porcentaje de inflamación de los grupos tratados a la séptima hora  
Elaborado por: Priscila Rugel, 2017

Para determinar la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados se toma en cuenta la última hora de medición de las áreas de las patas de los animales de experimentación, ya que a esta hora finaliza la etapa de inflamación. En el gráfico 2-3 se puede observar los distintos valores obtenidos de cada tratamiento, conociendo así cual es la dosis que más se acerca los valores obtenidos de los grupos control positivos como son el fármaco de referencia (diclofenaco sódico) y el extracto de referencia (*E glutinosum*), esta dosis es la 100 mg/Kg de *S. quitensis* la cual se aproxima con un 4.9 % al fármaco de referencia (Diclofenaco sódico), mientras que con un valor de 4.3% se aproxima al porcentaje del extracto de referencia. Por ende entre las tres dosis aplicadas del extracto de *S. quitensis* la dosis de 100mg/ Kg presenta mayor actividad antiinflamatoria a diferencia de la dosis de 25mg/Kg y la de 300 mg/Kg.

## CONCLUSIONES

El material vegetal y el extracto etanólico blando obtenido se encontraron en buenas condiciones ya que todos los resultados obtenidos cumplen con las especificaciones requeridas por las Normas Ramales Drogas Crudas. Extractos y Tinturas, garantizando la calidad, seguridad, eficacia e inocuidad del extracto, siendo este apto para realizar cualquier tipo de análisis.

Mediante espectrofotometría UV se cuantifico flavonoides totales, fenoles totales y la capacidad captadora de radicales libres del extracto de *S. quitensis* obteniendo un porcentaje de 0,522%, 10,545% y 25,50% respectivamente. Este 25,50% está directamente relacionado con la cantidad presente de fenoles y flavonoides totales responsables de ejercer el efecto antioxidante y la actividad antiinflamatoria de la planta.

El extracto etanólico de *S. quitensis* presentó gran cantidad de metabolitos secundarios que le confieren la actividad antiinflamatoria entre ellos se encuentran los flavonoides y los triterpenos, los cuales para su administración fueron vehiculizados en una suspensión elaborada a base de carboximetilcelulosa, permitiendo así su solubilidad y su dispersión homogénea al momento de la dosificación.

No existe diferencias significativas entre el extracto de *Salvia quitensis* a una concentración de 100mg/Kg, Diclofenaco sódico 100 mg/Kg y el extracto de referencia (*Eupatorium glutinosum* 100 mg/Kg) ya que según los resultados obtenidos mostraron tener una buena actividad antiinflamatoria a diferencia de los otros tratamientos.

## RECOMENDACIONES

Realizar un estudio toxicológico del extracto etanólico de *S. quitensis* como complemento de la investigación.

Utilizar otra vía de administración del extracto, de tal manera que se pueda evaluar la actividad antiinflamatoria de forma distinta.

Se sugiere realizar una investigación farmacológica sobre el uso incontrolado de esta especie vegetal ya que esta planta puede presentar posibles efectos adversos que pueden causar daños en la población que la usa como medicina ancestral.

Se recomienda realizar un estudio taxonómico más a fondo que permite conocer todas las características de esta especie.

## BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA, Lérica; CARBALLO, Caridad; & RAMOS, Raúl.** “Control de calidad de drogas vegetales: lavado y desinfección de *Artemisia annua* L. y *Tagetes lucida* Cav”. *Scielo*, vol. 17, nº 1, (2012), (La Habana) pp. 101-107. Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962012000100011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000100011)
- ARRIAGADA, Leonardo; JIRÓN, Marcela; & RUIZ, Inés.** “Uso de medicamentos en el adulto mayor”. *Scielo*, (2012), (Chile)pp. 309-317 Consulta: Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/v28n4/a12v28n4.pdf>
- BARICEVIC, D. ; et. al.** ”Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid”,*El sevier*, (2001),( ) pp. 125-132. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100003962>
- BATLOUNI, Michel.** “Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, AINES”, *Scielo*, 2013, Brasil pp. 538-546. Consulta: Disponible en: [http://files.sld.cu/anestesiologia/files/2013/03/es\\_v94n4a19.pdf](http://files.sld.cu/anestesiologia/files/2013/03/es_v94n4a19.pdf)
- BELTRÁN, Carlos; DÍAZ, Fredyc; & GÓMEZ, Harold.** “Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana”. *Scielo*, vol. 18, nº 4, (2013), (Colombia) pp.619-631. Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962013000400013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000400013)
- BOLT, Alan.** “Plantas medicinales”*Scielo*, (2012), (Nicaragua) pp. 1-149. Consulta: Disponible en:[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S140592742012000200003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140592742012000200003)
- BONKANKA, Celia. 2014.** Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. [En línea] (Tesis Pregrado) Universidad de la laguna, España. 2014. pp . 20-35[Consulta: 2016-12-21]. Disponible en: <ftp://tesis.bbtck.ull.es/ccppytec/cp282.pdf>
- BORDÉS GONZÁLEZ, R.; et. al.** “El proceso Inflamatorio”. *Pubmed*, (2010), (España). . Consulta:Disponibleen:<https://previa.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflatatorio4.htm>

**BROGDEN, R. N; et. al.** “Diclofenac Sodium: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Rheumatic Diseases and Pain of Varying Origin”. *Springer*, (2015), (Nueva Zelanda)pp.24-48. Consulta: Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6772422>

**BUITRON, Ximena.** *Ecuador uso y comercio de plantas*. Alemania: Traffic international, 2013, pp. 20-22

**CAÑIGUERAL, Salvador; DELLACASSA, Eduardo; & BANDONI, Arnaldo.** “Fitoterapia: vademécum de prescripción. ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo?”. *SciELO*,(2013),(España)pp.265-278. Consulta: Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)

**CELY, Willy; MATULEVICH, Javier; & CASTRILLÓN, William.** “triterpenos y esteroides de *Salvia leucantha* (Lamiaceae) y evaluación de su capacidad antioxidante”. *SciELO*, (2014), (Colombia) pp. 68-79. Consulta: Disponible en <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/340>

**CORNEJO, Guadalupe; & IBARRA, Guillermo.** “Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) in Michoacan, Mexico”. *SciELO*, (2011), (Mexico)pp. 1279-1296. Consulta: Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532011000400022](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000400022)

**CUENCA PARDO, Jesús; ÁLVAREZ DÍAZ, Jesús; & SERRANO CASILLAS, Juan.** “Fase inflamatoria en el paciente quemado”. *SciELO*, vol. 11, n° 2 (2012), (Mexico) pp. 90-97. Consulta: Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cplast/cp-2001/cp012g.pdf>

**CRUZ, Paulina.** Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para NEO-FÁRMACO. (Tesis)(Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba. 2009.pp. 107-108. Consulta: Disponible en: <http://dSPACE.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/218/1/56T00192.pdf>

**DAL PRA, Valeria y ; et al.** “Anti-inflammatory activity of fractionated extracts of *Salvia officinalis*. *Elsevier*, (2011), (Brasil) pp.67-71. Consulta: Disponible en: <http://imsear.li.mahidol.ac.th/bitstream/123456789/150900/1/japs2011v1n7p67.pdf>

- DEHESA, Marco.** “Control de Calidad de Fitofármacos”. *Scielo*, (2012), (Quito) pp. 139-151.
- DUARTE MOTE, Jesús; et al.** “Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica”. *Scielo*, Vol 23, (2011), (Mexico) pp. 225-233 Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232004000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232004000400007)
- EL-SEEDI, H.R; et. al.** “Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae)”. *Elsevier*, (2012), (Japón) pp. 293-296. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874102001010>
- ENCISO, Edwin; & ARROYO, Jorge.** “Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas”. *Scielo*, (2011), (Perú) pp. 231-237. Consulta: Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1074>
- ESCAMILLA, Cristopher; CUEVAS, Elvis; & GUEVARA, Jorge.** “Flavonoides y sus acciones antioxidantes”. *Scielo*, vol. 52, n° 2, (2010), (Cuba) pp. 73-75. Consulta: Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092g.pdf>
- FARHAT, Mouna Ben; et. al.** “Characterization and quantification of phenolic compounds and tioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats”. *Elsevier*. (2013), (España) pp. 904-914. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013003464>
- FERNÁNDEZ, Jose Luis; & RIVERA,Orlando.** “Las labiadas”,(2013), (Colombia) pp. 385-679. Consulta: Disponible en: <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/pubinv/JLF/LABExpedicM alaspinaBOTCOMP2013.pdf>
- FERRER, Anselmo; et. al.** “Aislamiento de ácido ursólico de las hojas de *Cestrum laurifolium* L’Herit”.*Elsevier*, Vol. 38, n° 1, (2007), (Brasil) pp. 234-247. Consulta: Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1816/181621661008.pdf>
- GARCÍA, Pedro.** “Inflamación”. *Pubmed*, Vol 102, N°1, (2010), (Madrid) pp. 91-159. Consulta: Disponible en: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

**GRAN; et al.** “Current concepts in chronic inflammatory diseases: Interactions between microbes, cellular metabolism and inflammation”. *Elsevier*, (2016), (Filipinas) pp. 47-55. Consulta: Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27373325>

**GRZEGORCZYK, I.; MATKOWSKI, A.; & WYSOKIN'SKA, H.** “Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L”. *Elsevier*, (2006), (Poland) pp. 536-541. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606009691>

**HALL RAMIREZ, Victoria; et. al.** “Antiinflamatorios no Esteroidales (AINES)”. *Scielo*, (2014), (Costa Rica) pp. 4-20. Consulta: Disponible en:

**HAMDY ROBY, Mohamed; et. al.** “Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts”. *Elsevier*, (2012), (Egipto) pp. 827-831. Consulta: Disponible en:

**HERAS, B; et al.** “Anti-inflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador”. *Elsevier*, (2011), (Quito) pp. 161-166. Consulta: Disponible en:

**HERNÁNDEZ, Teresa; CARRETERO, Emilia; & VILLAR, Angel.”** *Salvia. Fitoquímica, farmacología y terapéutica*, *El Sevier*, Vol 16, (2002), pp. 60-63. Consulta: Disponible en:

**INFORMACIÓN FARMACOTERAPEUTICA DE LA COMARCA (INFAC).** Selección de AINES: Entre riesgo Cardiovascular y Gastrointestinal, 2012, Colombia. Consulta: Disponible en:

**JIMÉNEZ, Giset; et. al.** “Comportamiento de las reacciones adversas a los analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos notificadas por el Sistema Cubano de Farmacovigilancia”. *Scielo*, (2013), (La Habana) pp. 1-6. Consulta: Disponible en:

**KOSTIĆ, Milica; et. al.** “Anti-inflammatory effect of the *Salvia sclarea* L. ethanolic extract on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats”. *Elsevier*, (2017), (Serbia) pp. 52-59.

**LÓPEZ BUSTAMANTE, Alejandra.** Aplicación de estrategias de diseño para la creación de una propuesta de productos en unión con una línea artesanal, para el proyecto de “Fortalecimientos de emprendimientos comunitarios” del Ministerio de Cultura. (tesis

pregrado). Universidad de las Américas, Quito-Ecuador, 2016. Pp 89-93. Consulta:  
Disponible en:

**MARTÍNEZ, S.; et. al.** “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes”.*Scielo*, vol. 17,  
nº 6 (2010), (España) pp. 271-278. Consulta: Disponible en:

**MARTÍNEZ-GORDILLO, Martha; et. al.** “Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y  
endemismo. *Lamiaceae*. *Scielo*, (2013), (México) pp. 30-86. Consulta: Disponible en:  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v84n1/v84n1a4.pdf>

**ECUADOR. MINISTERIO DEL AMBIENTE.** *Estrategia Nacional de Biodiversidad 2015-  
2030*. [En línea]. Quito: 2015. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en:  
<http://www.ambiente.gob.ec/>

**MIRANDA, Miriam.** “Evaluación de la actividad antiinflamatoria de Piper Elongatum (Matico)  
administrado por vía oral, comparado con indometacina en Cobayos”. *Scielo*, nº 1, (2010)  
pp. 50-54 . Consulta: Disponible en: [http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/  
?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch  
=336751&indexSearch=ID](http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=336751&indexSearch=ID)

**MUKHIJA, Achal; & KISHORE, Nand.**”Partitioning of drugs in micelles and effect on  
micellization:Physicochemical insights with tryptophan and diclofenac sodium”. Elsevier,  
(2016), (India)pp.1-10. Consulta: Disponible en:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775716309037>

**MURIEL LE BOURGEOIS, MD; et. al.** “Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug without  
Antibiotics for Acute Viral”. *Elsevier*, (2016), (Francia)pp.1-10. Consulta: Disponible en:

**NOGALES, Felipe.** “Inflamación Aguda”. *Scielo*, (2011), (España) pp. 62-69.

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS).** *Plantas Medicinales y Fitoterapia*[En  
línea]. Ginebra (2013). [Consulta: 15 diciembre 2016]. Disponible en:  
[http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/)

**PASTRANA DELGADO, Juan; & GARCÍA DE CASASOLA, Gonzalo.** *Fisiopatología y  
Patología general básicas*. Barcelona-España : Fotoletra S.A, 2013, pp. 245-324.

**PAYO, Armando; OQUENDO, Marledis; & OVIEDO, Ramona.** “Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Holguín. *Tamizaje fitoquimico Salvia.Scielo*, vol. 30, nº 2 , (2000), (Holguín) pp. 134-138. Consulta: Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol30\\_2\\_96/far06296.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol30_2_96/far06296.htm)

**PÉREZ, Gilberto Pérez.** “Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes”. *Scielo*, vol. 22, nº 1, (2003), (Cuba) pp. 48-57. Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002003000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007)

**ECUADOR. PLANTAS NATIVAS DE LA HOYA DE QUITO .** *Plantas emblemáticas de Quito*. [En línea] 2015. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: <http://plantasnativas.visitavirtualjbq.com/index.php/emblematicas/5-salvia-quitensis>

**QUISHPI, Ruth & CARGUA,Elizabeth** “Determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de carrasquilla (*Berberis hallii*) mediante el test de edema inducido en ratas (*rattus novergicus*) y contenido de flavonoides” (Tesis pregrado).Escuela Superior Politecnica de Chimboazo,Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador.2012.pp. 20-28. Consulta: Disponible en:

**ROBBINS;& COTRAN.** *Patología Estructural y Funcional* . Barcelona,España : Grafos S.A, 2015. pp.123-453.

**RODRÍGUEZ, Edwin Alexander; et. al.** “Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de rosmarinus officinalis, salvia officinalis y psidium guajava obtenidos con co2 supercrítico”. *Scielo*, vol. 36, nº 140 (2012), (Colombia) pp. 305-310. Consulta: Disponible en:[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S037039082012000300001](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037039082012000300001)

**SALVATIERRA LAYTÉN, Gustavo; et al.** “Hemorragia digestiva alta no variceal asociada al uso del antiinflamatorios no esteroideos en Lima Metropolitana”. *Scielo*, (2013), (Perú)pp. 13-20. Consulta: Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292006000100002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292006000100002&script=sci_arttext)

**SÁNCHEZ, Ester; et.al.** “Caracterización farmacognóstica de Salvia officinalis L.” *Scielo* vol. 10, nº 1, (2010), (La Habana) pp. 234-256. Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100005)

**SERRANO, Carlos; et.al.** “Cuantificación de ácido oleanólico, ácido ursólico y ácido rosmarínico en tres especies peruanas de *Clinopodium* (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae)”. *Scielo* , (2016), (Perú) pp. 333-350.

**SIERRA, Roxana; et. al.** “Análisis fitoquímico de la Salvia coccinea que crece en Cuba”. *Scielo*, (2011), (Cuba) pp. 54-59. Consulta: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962011000100006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000100006)

**TAMAMES ESCOBAR. S.; & MARTÍNEZ RAMOS, C.** *Cirugías: Fisipatología general*. Madrid-España : Medica Paramericana S.A, 2000. pp. 156-367.

**TORTOSA LOPEZ, Jose Manuel; & CRESPO ALONSO, Santiago.** Conceptos Básicos de Patología Forense. Estados Unidos : Palibrio, 2012. pp.114-208. Consulta: Disponible en: [https://books.google.com.ec/books/about/Conceptos\\_B%C3%A1sicos\\_de\\_Patolog%C3%ADa\\_Forense.html?id=m8ePusAo9Z4C&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Conceptos_B%C3%A1sicos_de_Patolog%C3%ADa_Forense.html?id=m8ePusAo9Z4C&redir_esc=y)

**TORUN, Mehmet; RÁCZ, Gábor;& VATAI, Gyula.** “Concentration of Sage (Salvia fruticosa Miller) extract by using integrated membrane process”. *Elsevier*, (2014),( Hungary) pp. 1-26. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586614003256>

**VADEMECUM .** Diclofenaco sodico. [En línea]. Ecuador, 2015.[Consulta: 13 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Diclofenaco%20Iny.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Diclofenaco%20Iny.htm)

**VALENZUELA,R.;IBIETA Hillerns; & NARVÁEZ CG,** “Efectividad del uso tópico de Salvia officinalis en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis”, *Scielo*, (2011),(Chile) pp:110-113. Consulta: Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/piro/v4n3/art05.pdf>

**VALLE, Brenda y ALBINO, Yanac.** “Cuantificación de flavonoides totales en los extractos hidroalcohólicos de las hojas de Piper aduncum “matico” procedentes del distrito del Chota, departamneto Cajamarca y del jardín Botánico “Rosa Elena de Ríos Martínez” de la

Universidad Nacional de Trujillo”. (tesis pregrado). Universidad de Trujillo, Perú. 2014.pp. 15-25. Consulta: Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3799>

**VIADERO, Carlos; et. al.** “Inflamación y oxidación: factores predictivos y/o causales”. *Elsevier*, (2016), (España) pp. 27-33. Consulta: Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0211139X16301408>

**VIEIRA, Vinícius; et. al.** “Effect of diclofenac sodium on seizures and inflammatory profile induced by kindling seizure model”. *Elsevier*, (2016), (Brasil) pp. 107-113. Consulta: Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27589413>

**VILLALBA, Ericka Wendie.** “Inflamación I “. *Scielo*, Vol 43, (2014), (Argentina) pp. 2261-2265. Consulta: Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S230437682014000400004&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S230437682014000400004&script=sci_arttext)

**WAGNER, H. y BLADT, S.** *Plant Drug Analysis*. 2° Ed. Germany: Springer, 2001, pp 195-210.

**WINTER, E, Risley & NUSS G.** “Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs”. *Elsevier*. (1962), pp. 544-547. Consulta: Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14001233>

**WOOD, J. R. I.** “The *Salvias* (Lamiaceae) of Bolivia.” *Scielo*, vol. 62, n° 2 (2014). (Bolivia) pp. 177-221. Consulta: Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-71512011000200006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512011000200006)

## ANEXOS

**ANEXO A:** Recolección del material vegetal *Salvia quitensis*.



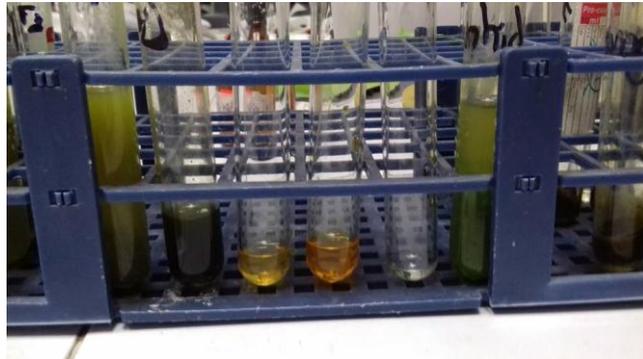
**ANEXO B:** Determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl y humedad.



**ANEXO C:** Maceración de la planta seca y molida con alcohol al 96%



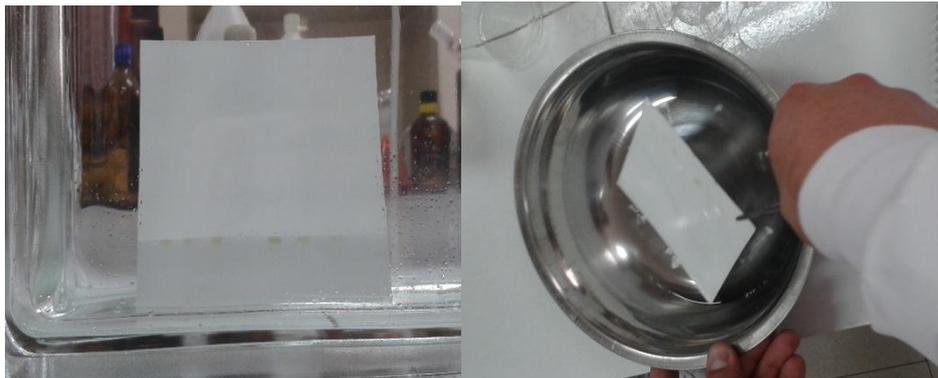
**ANEXO D:** Tamizaje Fitoquímico



**ANEXO E:** Obtención del extracto etanólico blando de *Salvia quitensis*



**ANEXO F:** Análisis Cromatográfico para flavonoides



**ANEXO G:** Análisis Cromatográfico para triterpenos



**ANEXO H:** Cuantificación de flavonoides totales mediante un método colorimétrico



**ANEXO I:** Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu



**ANEXO J:** Determinación de la capacidad captadora de electrones por el método del DPPH\*



**ANEXO K:** Materiales utilizados para la evaluación de la actividad Antiinflamatoria



**ANEXO L:** Dosis administradas a las ratas dependiendo su peso

TRATAMIENTOS	PARAMETROS (g)	REPETICIONES			
		R1	R2	R3	R4
IDiclofenaco 100 mg/Kg	Peso de la rata	192,4	201,5	207,8	223,8
	Volumen del principio activo	0,059	0,062	0,064	0,069
Eupatorium glutinosum 100 mg/Kg	Peso de la rata	195,0	203,9	219,3	243
	Volumen del principio activo	0,019	0,062	0,022	0,024
Salvia quitensis 25 mg/Kg	Peso de la rata	181,5	206,1	183,7	223,7
	Volumen del principio activo	0,004	0,005	0,005	0,006
Salvia quitensis 100 mg/Kg	Peso de la rata	173,7	202,1	214,3	225,3
	Volumen del principio activo	0,017	0,020	0,021	0,023
Salvia quitensis 300 mg/Kg	Peso de la rata	183,7	210,1	213,0	241,0
	Volumen del principio activo	0,055	0,063	0,064	0,072

**ANEXO M:** Administración de los extractos



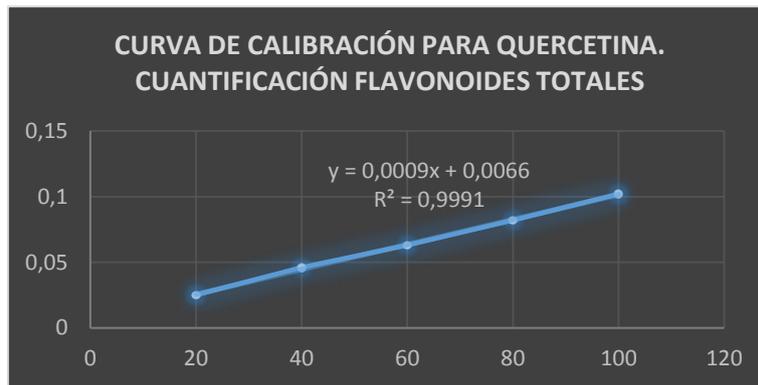
**ANEXO N:** Inducción del edema plantar con carragenina al 1%



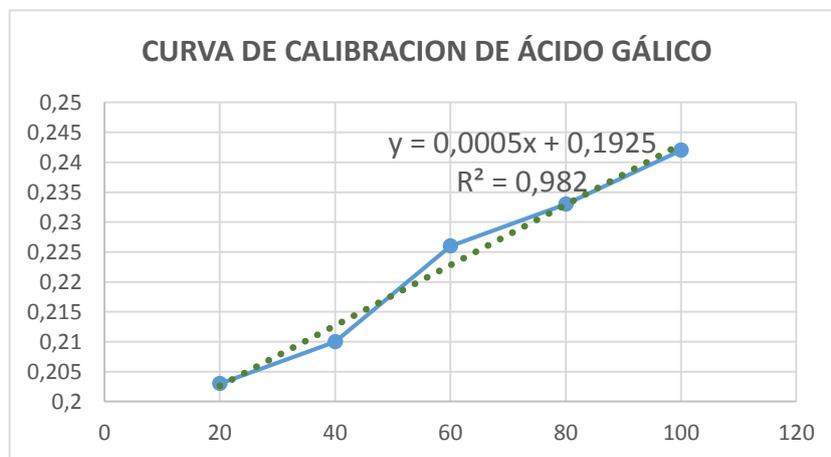
**ANEXO O:** Medición del área del edema generado.



**ANEXO P:** Curva de calibración para quercetina usada en la cuantificación de flavonoides.

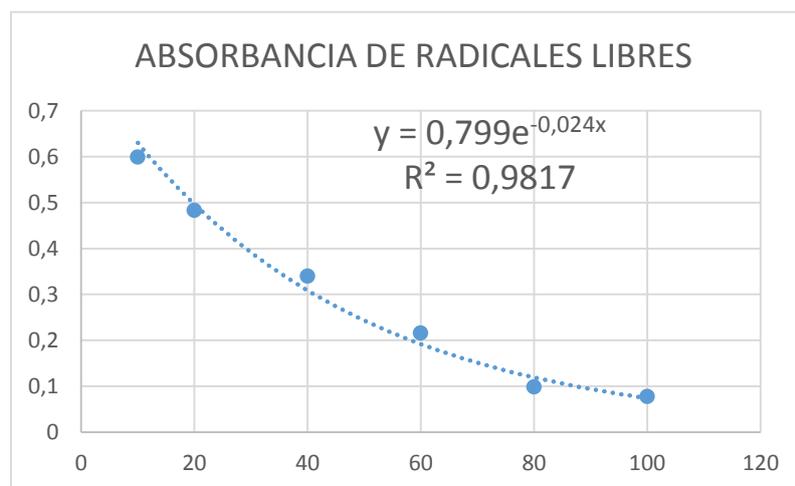


**ANEXO Q:** Curva de calibración para ácido gálico usada en la cuantificación de fenoles.



**ANEXO R:** Curva de calibración para la capacidad captadora de radicales libres in vitro.

Método DPPH\*



ANEXO S: Identificación y comprobación de la especie vegetal



**HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)**  
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL CHIMBORAZO  
Panamericana sur Km 1, fono: (011) 3 998 200 ext. 709113, Jaramqui y Jajahuasi  
Riobamba Ecuador

Ofc.No.016.CHEP.2016

Riobamba, 21 de junio del 2016.

Ing. Marcelo Pino

DIRECTOR PROVINCIA MAE- CHIMBORAZO

De mis consideraciones:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente informo que bajo la responsabilidad del Srta. Priscila Anabel Rugel Garcés con CI. 1804252557, cuyo tema es "Determinación de la actividad anti-inflamatoria del extracto de la especie *Salvia quitensis* Benth. revisando en los registros en el herbario, comunico que es una planta bien colectada y con amplia distribución, de tal manera que la especie no va ha ser Ingresada a la colección del herbario.

Anticipando mis agradecimientos por la atención a la presente

Me despido  
Atte.

  
Ing. Jorge Caranqui  
HERBARIO ESPOCH



FACULTAD DE  
RECURSOS  
NATURALES

Recibido 21/06/2016  
