



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO EN RATONES (*Mus musculus*) DE LAS HOJAS DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum Kunth*)

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA:

INGRID VANESSA MANOBANDA CACERES

Riobamba – Ecuador

2024



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

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN
VIVO EN RATONES (*Mus musculus*) DE LAS HOJAS DEL
MORTIÑO (*Vaccinium floribundum Kunth*)**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: INGRID VANESSA MANOBANDA CACERES

DIRECTORA: BQF. VALERIA ISABEL RODRIGUEZ VINUEZA

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Ingrid Vanessa Manobanda Caceres

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.

Yo, Ingrid Vanessa Manobanda Caceres, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 13 de mayo de 2024

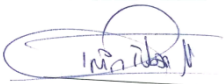

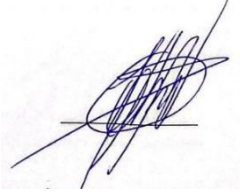


Ingrid Vanessa Manobanda Caceres

C.I: 185060878-5

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO EN RATONES (*Mus musculus*) DE LAS HOJAS DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum Kunth*)**, realizado por la señorita: **INGRID VANESSA MANOBANDA CACERES**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Irvin Ricardo Tubon Usca PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 _____	2024-05-13
BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinueza DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2024-05-13
BQF. John Marcos Quispillo Moyota ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2024-05-13

DEDICATORIA

A Dios, que ha sido mi principal guía en este proceso, por darme fuerza y sabiduría para culminar con éxito mi carrera universitaria.

A mis padres Alicia y Geovanny, que han sido el pilar fundamental para cumplir esta meta, gracias por su amor incondicional, su apoyo y sus palabras de aliento día a día para poder culminar esta etapa con éxito, ya que sin ustedes este logro no hubiera sido posible, esto es por y para ustedes. Gracias por ser los mejores padres. También a mi hermano Mateo que siempre ha estado apoyándome.

A Johnnathan que ha sido una persona importante en mi vida y durante este largo proceso, gracias por tu amor y tu apoyo incondicional para culminar mi carrera.

A mi familia, que han sido una parte importante de este logro, gracias por cada consejo y por cada palabra de aliento para cumplir mi meta, gracias por apoyarme siempre en todo momento.

Vanessa

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiarme durante este proceso y sobre todo a mis padres y hermano por confiar en mí y darme su apoyo incondicional.

Como no agradecer a mi directora y mi asesor Valeria Rodríguez y John Quispillo que han sabido brindarme su conocimiento y guiarme en la realización de la tesis.

A mis abuelitos por estar siempre dándome ánimos para culminar la carrera.

A toda mi familia por siempre estar para mí en todo momento.

Vanessa

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNOSTICO DEL PROBLEMA	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Justificación	4
1.3 Objetivos	6
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	6
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	6

CAPÍTULO II

2. MARCO TEORICO	7
2.1 Antecedentes de investigación.....	7
2.2 Referencias teóricas.....	9
2.2.1 <i>Mortiño (Vaccinium floribundum kunth)</i>	9
2.2.1.1 <i>Nombres comunes</i>	10
2.2.1.2 <i>Taxonomía</i>	10
2.2.1.3 <i>Hábitat</i>	11
2.2.1.4 <i>Descripción botánica</i>	11
2.2.1.5 <i>Descripción geográfica</i>	11

2.2.1.6	<i>Composición química y nutricional de Vaccinium floribundum Kunth</i>	12
2.2.1.7	<i>Usos etnobotánicos</i>	12
2.2.1.8	<i>Actividad antioxidante</i>	13
2.2.1.9	<i>Metabolitos secundarios</i>	13
2.2.1.9.1	<i>Compuestos fenólicos</i>	13
2.2.1.9.2	<i>Flavonoides</i>	14
2.2.2	<i>Inflamación</i>	14
2.2.2.1	<i>Definición</i>	14
2.2.2.2	<i>Manifestaciones clínicas</i>	16
2.2.2.3	<i>Clasificación de la inflamación</i>	16
2.2.2.4	<i>Fases de la inflamación</i>	18
2.2.3	<i>Antiinflamatorios no esteroideos</i>	19
2.2.3.1	<i>Definición</i>	19
2.2.3.2	<i>Modo de acción</i>	19
2.2.3.3	<i>Reacciones adversas más frecuentes</i>	20
2.2.3.4	<i>Aplicaciones terapéuticas</i>	20
2.2.3.5	<i>Mecanismo de acción de antiinflamatorios no esteroideos</i>	20
2.2.3.6	<i>Diclofenaco sódico</i>	21
2.2.3.6.1	<i>Mecanismo de acción</i>	21
2.2.3.6.2	<i>Farmacocinética</i>	21
2.2.3.6.3	<i>Posología</i>	21
2.2.3.6.4	<i>Reacciones adversas</i>	22
2.2.4	<i>Animales de experimentación</i>	22
2.2.4.1	<i>Animal de laboratorio</i>	22
2.2.4.2	<i>Clasificación taxonómica de ratones Mus musculus</i>	22
2.2.4.3	<i>Manejo y cuidado de ratones</i>	22
2.2.4.4	<i>Ventajas del uso de como animales de laboratorio</i>	23
2.2.4.5	<i>Desventajas</i>	23
2.2.5	<i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo</i>	24

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	25
3.1	Enfoque, diseño y alcance	25
3.2	Diseño experimental	25
3.2.1	<i>Población de estudio</i>	25
3.2.2	<i>Lugar de investigación</i>	25
3.2.3	<i>Criterios de inclusión</i>	25
3.2.4	<i>Criterios de exclusión</i>	25
3.2.5	<i>Hipótesis</i>	26
3.2.6	<i>Identificación de variable</i>	26
3.3	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	26
3.3.1	<i>Equipos, materiales y reactivos</i>	26
3.3.1.1	<i>Equipos</i>	26
3.3.1.2	<i>Materiales</i>	27
3.3.1.3	<i>Reactivos</i>	27
3.3.2	<i>Técnicas y métodos</i>	28
3.3.2.1	<i>Selección de la planta</i>	28
3.3.3	<i>Recolección de la planta</i>	28
3.3.3.1	Preparación del material vegetal.....	28
3.3.3.2	<i>Obtención del extracto etanólico</i>	30
3.3.4	<i>Cálculo de porcentaje de rendimiento</i>	31
3.3.5	<i>Cuantificación de fenoles y flavonoides</i>	31
3.3.5.1	<i>Fenoles totales</i>	31
3.3.5.2	<i>Flavonoides totales</i>	32
3.3.6	<i>Determinación de la actividad antioxidante</i>	32
3.3.6.1	<i>Método DPPH</i>	32
3.3.7	<i>Evaluación de actividad antiinflamatoria</i>	33

3.3.7.1	<i>Biomodelos del bioterio</i>	33
3.3.7.2	<i>Ambientalización de biomodelos del bioterio</i>	33
3.3.7.3	<i>Elaboración de los reactivos para evaluar la actividad antiinflamatoria</i>	34
3.3.7.4	<i>Modelo de edema plantar inducido por carragenina</i>	34
3.3.8	<i>Análisis de datos</i>	35

CAPITULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1	Determinación de fenoles y flavonoides presentes en las hojas de mortiño.	37
4.1.1	<i>Rendimiento de los extractos etanólicos de las hojas de mortiño Vaccinium floribundum Kunth</i>	37
4.2	Cuantificación de fenoles totales	38
4.3	Cuantificación de flavonoides totales	40
4.4	Determinación de la actividad antioxidante	43
4.5	Inducción y evaluación del Método de Edema Plantar con carragenina	44
4.5.1	<i>Resultados de disminución de la inflamación</i>	45
4.6	Análisis estadístico	48
4.6.1	<i>Determinación del extracto etanólico con mejor actividad antiinflamatoria</i>	50

CAPITULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1	Conclusiones	52
5.2	Recomendaciones	53
	BIBLIOGRAFÍA	53
	ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de <i>Vaccinium floribundum Kunth</i>	10
Tabla 3-1: Equipos utilizados en la investigación.....	26
Tabla 3-2: Descripción de los materiales de laboratorio usados.....	27
Tabla 3-3: Reactivos usados en la investigación.....	27
Tabla 3-4: Elaboración de reactivos a usarse en el método de edema plantar	34
Tabla 3-5: Diseño de la evaluación de la “actividad antiinflamatoria” in vivo por edema plantar.	35
Tabla 4-1: Rendimiento de los extractos	37
Tabla 4-2: Cuantificación del contenido de fenoles totales de las hojas de mortiño.	38
Tabla 4-3: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de fenoles totales.	40
Tabla 4-4: Cuantificación del contenido de flavonoides totales de las hojas de mortiño.	40
Tabla 4-5: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de flavonoides totales.	42
Tabla 4-6: Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Vaccinium floribundum Kunth</i>	43
Tabla 4-7: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de actividad antioxidante.....	44
Tabla 4-8: Porcentaje de inflamación de acuerdo con el tiempo y tratamientos.	45
Tabla 4-9: Porcentaje de inhibición de la inflamación de cada tratamiento.....	46
Tabla 4-10: Análisis estadístico AN OVA de los tratamientos.	48
Tabla 4-11: Análisis estadístico con Test Tukey y Dunnett	49
Tabla 4-12: Test de Tukey con un nivel de confianza de 95%	50

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Proceso tisular de la inflamación.	15
Ilustración 2: Estructura Química del Diclofenaco	21
Ilustración 3: Preparación de la materia vegetal.....	29
Ilustración 4: Obtención del extracto	30
Ilustración 5: Cuantificación de fenoles totales en las hojas de mortiño.....	39
Ilustración 6: Cuantificación de flavonoides totales en las hojas de mortiño.....	41
Ilustración 7: Porcentaje de inhibición de la inflamación de cada tratamiento de acuerdo con el tiempo.....	47

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Recolección de la materia prima <i>Vaccinium floribundum Kunth</i>	60
ANEXO B: Secado de las hojas en la estufa a 40°C	60
ANEXO C: Maceración de los extractos a diferentes concentraciones	61
ANEXO D: Filtración de los extractos	61
ANEXO E: Evaporación del solvente.....	62
ANEXO F: Extracto de las hojas del mortiño seco.....	62
ANEXO G: Animales de experimentación	63
ANEXO H: División de animales de experimentación según su grupo experimental.....	63
ANEXO I: Ambientalización de animales de experimentación	64
ANEXO J: Etiquetado de los grupos experimentales para su posterior administración.....	64
ANEXO K: Administración de los diferentes extractos.....	65
ANEXO L: Medición de la patita luego de la administrar carragenina	65

RESUMEN

La evaluación de la actividad antiinflamatoria de productos naturales como las hojas de Mortiño es un área de investigación importante. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth* en animales de experimentación, mediante la técnica de edema plantar. Para lo cual se recolectó, lavo, secó, y trituró el material vegetal, para determinar el mejor rendimiento. Posterior se obtuvieron los extractos etanólicos por maceración a una proporción etanol: agua 20:80, 50:50, 80:20 y 96:4, con la finalidad de identificar metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal. Se utilizó técnicas espectrofotométricas para la cuantificación de fenoles y flavonoides totales. La determinación de actividad antioxidante se lo realizo por el método con el radical DPPH. Además, se evaluó el efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos en biomodelos *Mus Musculus* a los cuales se les indujo inflamación mediante la administración de carragenina al 1% en la zona plantar. El área de la inflamación se midió con la ayuda del programa ImageJ. Los valores obtenidos fueron fundamentales para hallar el porcentaje de inflamación a distintos tiempos de medición. Luego se aplicó el análisis estadístico con la prueba ANOVA de un factor, Tukey-B y Dunnett para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos aplicados. Se obtuvo como resultado que el extracto etanólico a base de *Vaccinium floribundum Kunth* a una proporción de 50:50 tiene mejor rendimiento 28,459%, cuantificación de fenoles totales 73,627 mg EAG/g, mientras que flavonoides totales 190,047 mg EQ/g, y capacidad antioxidante 65,815% de inhibición. Se determino que a una concentración de 100 y 300 mg/kg mostró mayor actividad antiinflamatoria, estadísticamente similar al diclofenaco sódico 100mg/kg, se concluyó que los extractos etanólicos de *Vaccinium floribundum Kunth* posee una alta eficacia antiinflamatoria gracias a la presencia de metabolitos secundarios en el extracto.

Palabras clave: <INFLAMACIÓN>, <EXTRACTO>, <*Vaccinium floribundum Kunth*> <FLAVONOIDES>, <COMPUESTOS FENOLICOS>, <CARRAGENINA>, <EDEMA PLANTAR>.

0698-DBRA-UPT-2025



ABSTRACT

The evaluation of the anti-inflammatory activity of natural products such as *Mortiño* leaves is an important area of research. The aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of *Vaccinium floribundum Kunth* leaves in experimental animals using the foot edema technique. The plant material was collected, washed, dried, and ground to determine the best yield. Subsequently, ethanolic extracts were obtained by maceration using ethanol: water ratios of 20:80, 50:50, 80:20, and 96:4 to identify secondary metabolites present in the plant species. Spectrophotometric techniques were used to quantify total phenols and flavonoids. The determination of antioxidant activity was performed using the DPPH radical method. Additionally, the anti-inflammatory effect of the ethanolic extracts was evaluated in *Mus musculus* samples in which inflammation was induced by administering 1% carrageenan in the plantar area. The inflammation area was measured using the ImageJ program. The obtained values were fundamental to finding the percentage of inflammation at different measurement times. Statistical analysis was applied using one-way ANOVA, Tukey-B, and Dunnett tests to determine if there were significant differences between the applied treatments. The results showed that the ethanolic extract of *Vaccinium floribundum Kunth* at a 50:50 ratio had the best yield of 28.459%, total phenols quantification of 73.627 mg GAE/g, total flavonoids of 190.047 mg QE/g, and antioxidant capacity of 65.815% inhibition. It was determined that at concentrations of 100 and 300 mg/kg showed greater anti-inflammatory activity, statistically similar to 100 mg/kg diclofenac sodium. It was concluded that the ethanolic extracts of *Vaccinium floribundum Kunth* possess high anti-inflammatory efficacy due to the presence of secondary metabolites in the extract.

Keywords: <INFLAMMATION>, <EXTRACT>, <*Vaccinium floribundum Kunth*>, <FLAVONOIDS>, <PHENOLIC COMPOUNDS>, <CARRAGEENAN>, <PFOOT EDEMA>.



Ing. Romel Francisco Calles Jiménez

C.I 0603877713

INTRODUCCIÓN

La inflamación es una reacción protectora del cuerpo ante agentes irritantes o infecciosos, esta respuesta puede ser aguda o crónica, mostrándose a través de síntomas como hinchazón, enrojecimiento, dolor y aumento de temperatura en la zona afectada. La inflamación aguda disminuye con el tiempo, mientras que la crónica puede persistir durante meses o incluso años. Un problema creciente en la sociedad es el uso excesivo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE). A nivel mundial, estos medicamentos se emplean frecuentemente como primera opción para aliviar el dolor de diversas enfermedades. Su mal uso puede llevar a efectos secundarios graves, incluyendo riesgos para el sistema gastrointestinal, cardiovascular y renal. Además, pueden causar problemas como hepatotoxicidad o reacciones de hipersensibilidad graves (Orellana y Cevallos 2020, pp. 5-16).

La evaluación de la actividad antiinflamatoria de productos naturales como las hojas de Mortiño *Vaccinium floribundum Kunth* es un área de investigación importante en la búsqueda de alternativas a los tratamientos tradicionales. La inflamación es un proceso biológico esencial por el que el cuerpo responde al ataque y es importante en la respuesta inmune. Pero cuando este proceso se sale de control, puede provocar una serie de enfermedades crónicas, como artritis, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Por tanto, la identificación y caracterización de compuestos con potencial antiinflamatorio es fundamental para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (García 2008, pp. 91-159).

Mortiño es una planta originaria de la región de los Andes de América del Sur que se utiliza tradicionalmente por sus propiedades medicinales, incluido su potencial antiinflamatorio. Este arbusto, que crece en las zonas salvajes de los Andes, ha atraído la atención científica por su rico contenido en compuestos fenólicos y antocianinas, conocidos por sus efectos antioxidantes y potenciales antiinflamatorios (Alvarado et al 2022, pp. 26-34). La evaluación de estas propiedades en modelos animales como ratones (*Mus musculus*) permite no sólo evaluar la eficacia del extracto de las hojas de Mortiño en la modulación de las respuestas inflamatorias, sino también investigar su seguridad y los posibles mecanismos por los que actúa. Varios estudios han demostrado que el género *Vaccinium* contribuye en la inhibición de la inflamación, generando gran interés farmacológico, por contener varios compuestos bioactivos que ayudan a impedir la evolución de enfermedades que presentan procesos inflamatorios (Hernández 2022, pp. 23-25).

Por tanto, este documento se considera un esfuerzo prometedor para mejorar el conocimiento científico de alternativas naturales para el tratamiento de la inflamación. Con esta investigación se espera promover el desarrollo de fármacos terapéuticos más seguros y eficaces, y la

conservación e investigación de la biodiversidad andina, enfatizando la importancia de estas especies en la medicina y farmacología modernas.

CAPÍTULO I

1. DIAGNOSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Se sabe que varios tipos de enfermedades afectan el desarrollo y el metabolismo del ser humano, comenzando con la inflamación aguda y progresando hacia enfermedades inflamatorias crónicas. La inflamación es una parte importante de un equilibrio saludable y es el proceso de defensa natural del cuerpo contra los estímulos ambientales, que se manifiesta en síntomas como dolor, calor, enrojecimiento e hinchazón (Yanza 2017, pp. 18-19).

La inflamación es parte de la respuesta del sistema inmunológico a los invasores y amenazas, permitiendo a nuestro cuerpo atacar las infecciones y curar el daño que causan. Los medicamentos más utilizados son los antiinflamatorios no esteroides (AINE), recetados por un médico o automedicación, porque son medicamentos que ayudan a las personas a mejorar sus síntomas, pero cabe señalar que su uso inadecuado puede provocar diversas reacciones adversas a ellos, lo que puede poner en peligro la vida del usuario. Actualmente es muy común el autotratamiento con antiinflamatorios no esteroides, lo que provoca problemas de salud (Canul 2022, pp. 38-47).

Las investigaciones de los últimos años han demostrado que los AINE muestran que pueden causar efectos secundarios como toxicidad gastrointestinal, renal, cardiovascular, cerebral y sanguínea, especialmente cuando se usan a largo plazo o en dosis altas. Por ello, una opción es utilizar especies vegetales ya que tienen diversas propiedades como antiinflamatorias, antioxidantes, cicatrizantes, etc.

En América Latina el interés por la validación científica del uso de plantas medicinales tradicionales ha crecido exponencialmente. Ecuador es rico en una gran biodiversidad de especies vegetales medicinales que son poco utilizadas por falta de estudios (Bermúdez et al 2022, pp. 208-214). Esta falta de conocimiento científico limita la posibilidad de utilizar estas especies para desarrollar nuevos fármacos antiinflamatorios que podrían proporcionar alternativas más seguras y eficaces para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

La especie *Vaccinium floribundum* posee una alta capacidad antioxidante, la cual se encuentra asociada a las antocianinas presentes como la cianidina y delphinidina. Esta es una fuente importante de ácido gálico, de flavonoides (quercetina y micertina), ácido ascórbico y

carotenoides como β -caroteno y luteína. A su vez, esta especie posee una gran cantidad de fenoles los cuales ayudan en la prevención de enfermedades crónicas (Romero et al. 2021).

Las plantas medicinales son una fuente prometedora de nuevos agentes terapéuticos debido a su amplia biodiversidad y conocimientos tradicionales asociados a su uso. La especie *Vaccinium floribundum* Kunth, comúnmente conocida como mortiño, es un arbusto originario de la región andina que se extiende desde Venezuela hasta Bolivia, incluyendo Ecuador. El potencial antiinflamatorio de varias especies del género *Vaccinium* ha sido documentado en todo el mundo, lo que destaca la importancia de estudiar las propiedades específicas de los arándanos, que aún no se conocen bien en comparación con plantas similares (Mora et al. 2023, pp. 8-16).

1.2 Justificación

El desarrollo de alternativas más seguras y efectivas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias se ha vuelto más urgente por los problemas de resistencia a los medicamentos y los efectos secundarios asociados con los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). La exploración de fuentes naturales de nuevos compuestos antiinflamatorios satisface la necesidad global de medicamentos integrados que combinen eficacia, seguridad y sostenibilidad. El estudio del mortiño, especie utilizada en etnomedicina en los Andes, se enmarca en este contexto y apunta a ampliar los tratamientos disponibles con potenciales beneficios globales en términos de salud pública y desarrollo de nuevos fármacos.

En América Latina la biodiversidad es un recurso valioso para la investigación científica y el desarrollo tecnológico, especialmente en el campo de la fitomedicina. La región se caracteriza por una rica biodiversidad, que ofrece amplias oportunidades para descubrir ingredientes activos con propiedades medicinales. En este marco, la investigación mortiño demostró ser un medio para poner en valor recursos naturales únicos y fortalecer la investigación fitofarmacológica, contribuyendo al desarrollo científico y tecnológico regional.

Esta línea de investigación es elegida para satisfacer la necesidad de un conocimiento más profundo de la flora del país y sus usos medicinales. Mortiño es parte de la riqueza natural del Ecuador y un elemento tradicional de la medicina popular andina, lo que brinda la oportunidad de combinar conocimientos ancestrales con la ciencia moderna. La investigación en Ecuador promueve la investigación en áreas clave como la etnobotánica y la farmacología, y apoya la estrategia nacional de innovación en salud, enfoca en el desarrollo de tratamientos alternativos y el uso sostenible de los recursos biológicos.

La investigación científica sobre el mortiño se alinea con los esfuerzos del país para utilizar sosteniblemente los recursos biológicos y brindar alternativas de tratamiento más seguras y asequibles. De esta manera, esta investigación hace un aporte significativo al desarrollo de la medicina integrativa, que valora y preserva los conocimientos tradicionales, promoviendo la conciencia sobre la importancia de la naturaleza en la promoción de la salud y el bienestar.

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo general*

- Evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo en ratones *Mus musculus* del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth* “Mortiño”

1.3.2 *Objetivos específicos*

- Cuantificar la presencia de fenoles y flavonoides totales en los extractos etanólicos de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*, a diferentes concentraciones en ratones *Mus musculus*, con inflamación inducida, mediante la técnica de carragenina.
- Determinar la mejor concentración del extracto etanólico de hojas de *Vaccinium floribundum kunth* con mejor actividad antiinflamatoria en ratones (*Mus musculus*) previamente inducidos a la técnica de carragenina.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de investigación

El objetivo de la investigación realizada por Alarcón 2018, fue estudiar la composición química y la capacidad antioxidante del mortiño proveniente de tres páramos del Ecuador. La caracterización química de los principales compuestos fenólicos se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión acoplada a espectrometría de masas (HPLC/MS), mientras que la capacidad antioxidante se determinó mediante la capacidad de reducir el hierro (FRAP) y el método antioxidante DPPH. Mortiño de Pichincha mostró una concentración alta de compuestos bioactivos en comparación con los frutos provenientes de las otras dos regiones. También se demostró que el Mortiño presentó una variedad de compuestos polifenólicos como las antocianinas (cianidina hexósido, cianidina pentosida, aglicona de cianidina, derivados de delofonidina), proantocianinas (dímero de GCepicatequina) y flavonoides (derivados del ácido hidroxibenzoico y ácido hidroxicinámico). Por otro lado, los análisis de la capacidad antioxidante evidenciaron altos valores para la propiedad biológica, lo que nos permite indicar que Mortiño puede considerarse como una importante fuente natural de compuestos bioactivos con efectos beneficios para la salud (Alarcón 2018, pp. 35-45).

Para García 2017, indica que el foco principal del estudio fue evaluar la actividad antiinflamatoria de extractos acuosos y etanólicos de Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en macrófagos de ratón. Los resultados obtenidos mostraron un mayor efecto antiinflamatorio del extracto acuoso a pH 5, destacando el potencial de *V. floribundum* actúa como agente antiinflamatorio. Este hallazgo tiene implicaciones importantes para el desarrollo de tratamientos alternativos basados en recursos naturales y respalda futuras investigaciones sobre el uso terapéutico de esta planta. Este estudio demuestra la importancia de los métodos de extracción y las condiciones de procesamiento para aumentar la actividad antiinflamatoria de los compuestos del mortiño. Estos resultados no sólo resaltan el valor de *V. floribundum* en la medicina tradicional andina también proporciona una base científica para su inclusión en la farmacopea moderna. La capacidad de los extractos de Mortiño para modular las respuestas inflamatorias en modelos in vivo abre oportunidades para desarrollar fármacos que permitan alternativas más seguras y eficaces para tratar enfermedades inflamatorias, contribuyendo al bienestar de la población y al progreso humano (García 2017, pp. 35-46).

En la investigación de Llanga (2022) realiza un detallado estudio in vivo de la actividad antiinflamatoria de un gel elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de hojas de *Sigesbeckia serrata*. Después de la recolección y preparación de 600 g de hojas, se controló el fármaco crudo y se prepararon los extractos para el análisis fitoquímico. El estudio continuó con la cuantificación de fenoles y flavonoides con geles preparados en formulaciones del 5%, 10% y 20%. La eficacia del gel se evaluó utilizando 36 *Mus musculus* para inducir edema plantar con carragenina al 1% y se encontró una reducción significativa del edema. El análisis estadístico mostró que el efecto terapéutico dependía de la concentración del extracto en el gel, y la fórmula al 20% se distinguía por una excelente actividad antiinflamatoria. Este hallazgo sugiere que los geles basados en extractos hidroalcohólicos de eneldo de hoja de sierra son una alternativa prometedora para el tratamiento tópico de la inflamación, enfatizando la necesidad de complementar estos estudios in vivo con otros métodos para investigar diferentes actividades farmacológicas y avanzar hacia el desarrollo fitofarmacéutico (Llanga 2022, pp. 42-53).

Este el documento de Riera (2020) presenta un estudio exhaustivo sobre los efectos antiinflamatorios de los geles de extracto de *Sigesbeckia serrata*. Los hallazgos resaltan la necesidad de cuantificar los compuestos fenólicos y flavonoides para evaluar el potencial antiinflamatorio de los extractos en pruebas in vivo, mostrando que el gel al 20% mostró una actividad antiinflamatoria más fuerte, incluso por encima del diclofenaco sódico, para reducir la inflamación. Este estudio muestra que *Sigesbeckia serrata* tiene un gran potencial como agente antiinflamatorio cutáneo alternativo. Además, se recomienda explorar nuevas formas de dosificación y complementar estudios in vivo para ampliar el conocimiento de las actividades farmacológicas de los extractos con el objetivo de desarrollar fitomedicamentos (Riera, Hernández 2020, pp. 25-37).

El estudio de Poma (2018) se centró en los efectos antiinflamatorios y analgésicos administrado por vía oral en dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg a ratas y ratones. kg y comparar los resultados con medicamentos comerciales como fenazopiridina y tramadol. El estudio confirmó la presencia de flavonoides, fenólicos y otros metabolitos secundarios en el extracto, correlacionando estos hallazgos con la actividad antiinflamatoria observada, en particular la reducción significativa del edema en dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg. El volumen aumentó en comparación con el fármaco comercial; sin embargo, no se observó ningún efecto analgésico significativo en ninguna de las concentraciones analizadas. Estos resultados indican que *manayupa* tiene potencial terapéutico en el tratamiento de procesos inflamatorios, aunque no como analgésico, y enfatizan la necesidad de realizar más investigaciones sobre el mecanismo de acción, la biodisponibilidad y eficacia de los compuestos activos de *Desmodium* y su uso (Poma 2018, pp. 56-67).

La literatura analizada proporciona una base sólida y diversa para estudios que evalúan la actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de plantas. Cada estudio aporta una metodología específica, resultados significativos en los efectos antiinflamatorios y analgésicos de diferentes extractos de plantas, y análisis de compuestos bioactivos como flavonoides y fenoles presentes en las especies estudiadas. Esta colección de estudios destaca la importancia de la investigación de la biodiversidad vegetal en el desarrollo de terapias alternativas, proporcionando un marco comparativo para seleccionar especies con potencial terapéutico, optimizar los métodos de extracción y planificar estudios in vivo.

2.2 Referencias teóricas

2.2.1 Mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*)

Mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) es una planta de la familia Ericaceae originaria de la región de los Andes de América del Sur, incluidos Ecuador, Colombia, Venezuela y Perú. En los páramos ecuatorianos se considera una planta endémica y ha sido muy utilizada por sus habitantes para colada morada. Sus frutos tienen contenidos importantes de azúcares, minerales, antioxidantes, vitaminas de complejo B y C y minerales como potasio, calcio y fósforo (Llivosaca et al. 2022).

Las comunidades indígenas andinas han utilizado el mortiño para tratar dolencias por sus propiedades antiinflamatorias. Se utiliza en la medicina tradicional para aliviar dolores musculares y articulares, problemas digestivos y para tratar resfriados y fiebres. Uno de los aspectos más destacables del mortiño es su alto contenido en antioxidantes. Las antocianinas, que dan a las bayas su característico color azul violeta, son responsables de neutralizar los radicales libres y reducir el estrés oxidativo, previniendo así enfermedades crónicas (Galarza, Pozo 2020, pp. 16-21).



Gráfico 2-1: Mortiño (*Vaccinium floribundum*)
Fuente: (Coba et al. 2012, pp. 7)

2.2.1.1 Nombres comunes

Ecuador: Mortiño

Colombia: Mortiño

Perú: Aguaymanto de páramo

Venezuela: Mortiño

2.2.1.2 Taxonomía

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *Vaccinium floribundum Kunth*

Categoría Taxonomía	Clasificación
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Genero	<i>Vaccinium</i>
Nombre científico	<i>Vaccinium floribundum kunth</i>
Nombre vulgar	Mortiño, Agraz, Uvas de monte

Fuente: (Díaz 2023, pp. 6)
Elaborado por: Manobanda V, 2023

2.2.1.3 Hábitat

Vaccinium floribundum Kunth (Mortiño) se encuentra principalmente en los páramos de Ecuador, ubicado en la majestuosa Cordillera de los Andes. Este arbusto es endémico de las montañas de Ecuador y prospera entre los 3.000 y 3.700 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra en varias provincias, entre ellas Cañar, Cotopaxi, Bolívar, Imbabura, Pichincha, Loja, Carchi, Azuay, Tungurahua y Chimborazo, mostrando su amplia distribución y capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales del ecosistema andino. Una gama tan amplia de hábitats resalta la importancia ecológica de Mortiño en la región montañosa del Ecuador, lo que refleja su importante papel en la biodiversidad y conservación del páramo andino (Caranqui et al. 2021, pp. 925).

La presencia en países como Ecuador, Colombia, Perú y Venezuela es significativa y parte integral de la biodiversidad local. La planta está bien adaptada a los bordes de los bosques y áreas abiertas del ecosistema de Páramo, donde contribuye a la conservación del suelo y sirve como fuente de alimento para la vida silvestre. Las condiciones climáticas de este entorno específico y hábitat natural son cruciales para el desarrollo de las propiedades nutricionales y medicinales valoradas por el Mortiño.

2.2.1.4 Descripción botánica

Vaccinium floribundum Kunth es un arbusto de tamaño mediano que alcanza una altura de promedio de 30 cm a 2 metros. Tiene una característica estructura ramificada y hojas alternas, que suelen tener unos 2 cm de largo y llaman la atención con sus bordes y nervaduras dentadas o rizadas. Los racimos florales de este arbusto tienen 6 a 10 flores de unos 8 mm de largo, decoradas con una corola cilíndrica con 4 o 5 finos lóbulos blancos o rosa rojizos. Tiene un ovario más bajo y es ligeramente más largo que la corola. Los frutos de Mortiño son bayas esféricas de hasta 8 mm de diámetro, jugosas, de color negro azulado oscuro, a veces violeta y cubiertas por una capa de cera. Del género *Vaccinium*, que incluye alrededor de 450 especies, *Vaccinium floribundum* tiene especial importancia en Ecuador, donde recibe diversos nombres como arándano andino, mortiño, uva del monte o uva de los Andes, destacando su diversidad y riqueza local (Sanchez 2022, pp. 17-19).

2.2.1.5 Descripción geográfica

Dentro del área geográfica que abarca el Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), un aspecto menos discutido, pero igualmente importante es su contribución al mantenimiento de la biodiversidad y la estabilidad del suelo en el ecosistema del Páramo. Estos arbustos se adaptan y

prosperan en condiciones alpinas extremas y desempeñan un papel vital en la prevención de la erosión del suelo. Su presencia en los Andes hace una contribución significativa a la conservación del agua subterránea, un recurso clave que sustenta la flora y la fauna locales y garantiza la salud de estos ecosistemas únicos (Díaz 2023, pp. 5-8).

2.2.1.6 *Composición química y nutricional de Vaccinium floribundum Kunth*

Mortiño pertenece al género *Vaccinium floribundum Kunth* y es conocido por su notable capacidad antioxidante, debido principalmente a la presencia de antocianinas y delfinidina. Este arbusto es reconocido en fitoquímica por su diversidad de composición química y nutricional, lo que lo convierte en un grupo de alimentos con especial valor biológico. Se distingue especialmente por su rico contenido en antocianinas y compuestos fenólicos. Las investigaciones muestran que su composición química incluye principalmente quercetina, derivados del ácido hidroxicinámico y antocianina-3-glucósido, lo que resalta su potencial en la nutrición y la medicina humana (Pastor, 2020).

La composición química de las hojas de mortiño incluye varios compuestos bioactivos. Estos compuestos incluyen flavonoides, taninos, ácidos fenólicos y terpenos, conocidos por sus efectos antioxidantes y antimicrobianos. En particular, los flavonoides son conocidos por su capacidad para neutralizar los radicales libres y reducir el estrés oxidativo, lo que los hace importantes en la prevención de enfermedades crónicas como las cardiovasculares y la diabetes (Rodríguez 2022, pp. 1-3).

Aunque hay pocos datos específicos sobre las hojas, al igual que otras plantas similares, pueden contener vitaminas importantes como la vitamina C y E, además de minerales como el potasio, magnesio, calcio y fibra dietética. Estos nutrientes son esenciales para mantener la salud y el bienestar general (Musuña, Varela 2020, pp. 7-9).

2.2.1.7 *Usos etnobotánicos*

El uso etnobotánico de *Vaccinium floribundum Kunth* (Mortiño) refleja la rica herencia de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas andinas. El arbusto se valora por sus bayas negras azuladas y es importante en la medicina tradicional, la dieta y las prácticas culturales de estas comunidades. Históricamente, Mortiño se ha utilizado para tratar dolencias inflamatorias, digestivas y respiratorias debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Llvisaca et al. 2022). En la alimentación, sus frutos se comen frescos y se usan para hacer mermeladas, bebidas y postres, y se valoran por su sabor único y valor nutricional. Además de sus usos medicinales y culinarios, Mortiño tiene un lugar en tradiciones y rituales que simbolizan la profunda conexión

entre la cultura andina y su entorno natural (Tubón Guamán 2022, pp.7). La etnobotánica del arándano incluye así un patrimonio intelectual que enfatiza la importancia de preservar la biodiversidad y las tradiciones culturales aborígenes.

2.2.1.8 *Actividad antioxidante*

En la actualidad el fruto del *Vaccinium floribundum Kunth*, está siendo introducido en el capo investigativo por su actividad antioxidante y por presentar características nutricionales que son favorables para evitar el desarrollo de radicales libres; moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados, que tienden a reaccionar con otros compuestos, en especial con los ácidos grasos poliinsaturados (García 2017, pp. 7).

Las hojas de Mortiño contienen varios compuestos bioactivos, entre ellos antocianinas, taninos, flavonoles y ácidos fenólicos, que tienen actividad antioxidante. En particular, las antocianinas son los pigmentos responsables del color característico de los frutos y hojas de muchas plantas y han sido ampliamente estudiadas por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, así como por sus potenciales beneficios para la salud cardiovascular y visual (Tubón y Guamán 2022, pp. 7).

La actividad antioxidante del género *Vaccinium* está relacionada no sólo con la presencia de antocianinas, sino también con la acción sinérgica de diversos compuestos fenólicos. La oxidativa causada por los radicales libres puede neutralizarse con antioxidantes naturales o sintéticos. Debido a estos efectos y a la creciente importancia de los antioxidantes en la industria farmacéutica y alimenticia es pertinente buscar alternativas de origen natural con gran actividad antioxidante y que no tengan efectos citotóxicos ni genotóxicos (Camino et al. 2023, pp. 339-347).

2.2.1.9 *Metabolitos secundarios*

Las diferentes plantas medicinales poseen una gran cantidad de metabolitos secundarios como: flavonoides y fenoles.

2.2.1.9.1 *Compuestos fenólicos*

Las bayas de género *Vaccinium spp.* Perteneciente a la familia Ericaceae se caracterizan por contener compuestos fenólicos que generalmente se encuentran a altas concentraciones, como, por ejemplo: antocianinas, ácido gálico, elagitaninos, proantocianidinas, flavonoides, ácidos hidroxycinámicos y glucosídicos de flavonol (Tubón y Guamán 2022, pp. 7).

Los compuestos fenólicos del arándano (*Vaccinium floribundum Kunth*), son una de sus propiedades más destacadas, otorgándole un amplio abanico de beneficios para la salud. Estos compuestos incluyen antocianinas, quercetina y varios derivados del ácido hidroxicinámico que le dan a la planta su poderosa actividad antioxidante. En concreto, las antocianinas no sólo confieren a Mortiño su característico color negro azulado, sino que también desempeñan un papel crucial en la prevención de enfermedades cardiovasculares, enfermedades inflamatorias y ciertos tipos de cáncer. La presencia de quercetina potencia este efecto y además tiene propiedades antiinflamatorias y antihistamínicas. La investigación sobre estos compuestos fenólicos en los arándanos revela un gran potencial para el desarrollo de complementos alimenticios nutricionales y terapéuticos (Guerrero 2019, pp. 7-9).

2.2.1.9.2 Flavonoides

El término de nota a un grupo de compuestos polifenólicos bastante amplio se caracterizan por una estructura benzo-y-pirano, se encuentran distribuidos dentro del reino vegetal. Son conocidos también como pigmentos naturales y también por proteger el organismo del daño producido por agentes oxidantes como rayos ultravioletas y sustancias químicas de ciertos alimentos, entre otros. Químicamente, son estructuras de mayor trascendencia dentro de este grupo que son los flavonoides, antocianinas capacidad de oxidante y antiinflamatorio principalmente, motivo por el cual fueron estudiados (Sanchez 2022, pp. 17-19).

Estos incluyen antocianinas, flavonoles y 3-flavonoles. Las antocianinas dan al fruto del mortiño su color negro azulado y tienen poderosas propiedades antioxidantes. Los flavonoles (como la quercetina y el kaempferol) y los flavan-3-oles (como las catequinas) también mejoran significativamente la capacidad antioxidante y la salud de las hojas (Roldán 2013, pp.18-20).

2.2.2 *Inflamación*

2.2.2.1 *Definición*

La inflamación es la respuesta biológica natural del cuerpo a una lesión, infección o irritación. Es un importante mecanismo de defensa del sistema inmunológico diseñado para proteger al cuerpo del daño y promover la regeneración y curación de los tejidos afectados. Una respuesta inflamatoria se caracteriza por signos y síntomas clásicos como enrojecimiento, calor, hinchazón, dolor y, a veces, pérdida de función en el área afectada. La respuesta implica una serie compleja de eventos bioquímicos, incluida la liberación de mediadores químicos como citocinas y prostaglandinas, que atraen células inmunes al sitio de la lesión para iniciar el proceso de reparación. Aunque la inflamación es fundamental para la salud, cuando es excesiva o dura más

de lo necesario, puede provocar el desarrollo de enfermedades crónicas, incluidos algunos cánceres, enfermedades cardíacas y enfermedades autoinmunes (GARCÍA 2008, pp. 91-159).

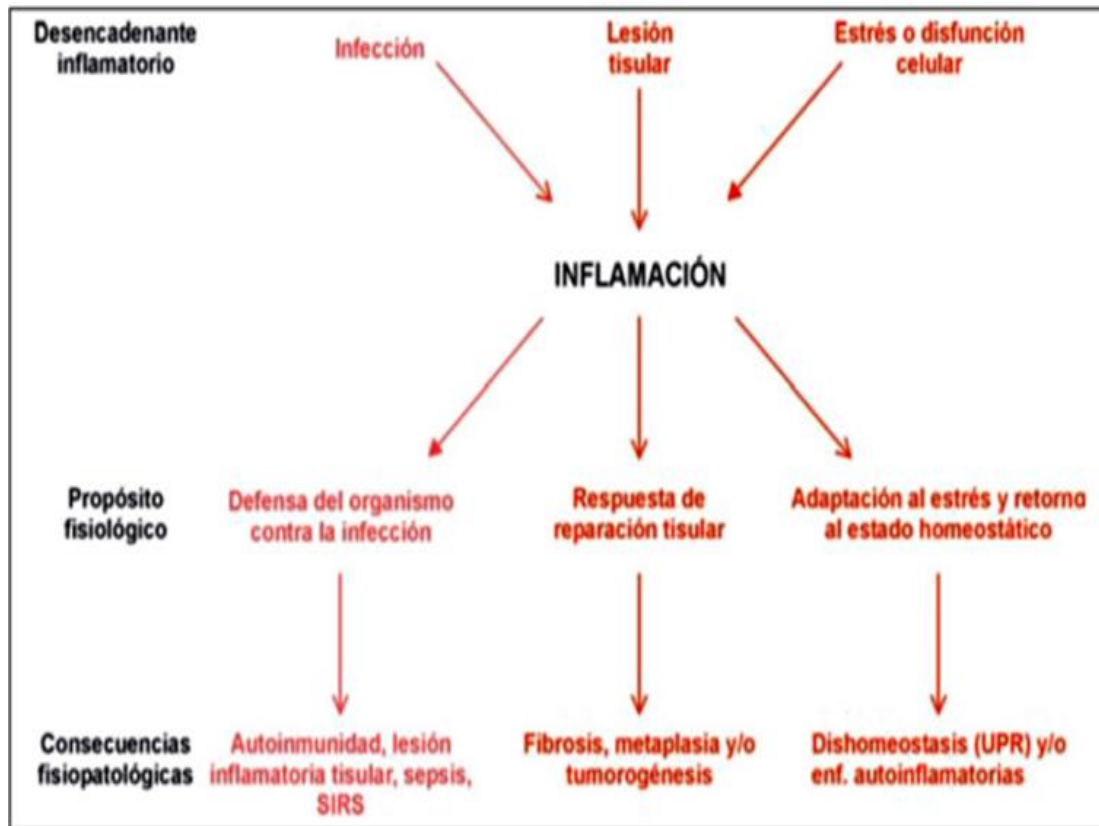


Ilustración 1: Proceso tisular de la inflamación.

Fuente: (GARCÍA 2008, pp. 91)

La inflamación es una respuesta de defensa del sistema inmunológico contra el daño celular y tisular causado por agentes biológicos (como patógenos bacterianos) o factores estresantes químicos, físicos o mecánicos. Esta respuesta puede volverse crónica y provocar enfermedades degenerativas como artritis, aterosclerosis y, en algunos casos, cáncer.

La respuesta aguda se caracteriza por una multiplicidad de sucesos interrelacionados entre sí, muchos se producen en forma simultánea, de forma que su exposición se torna compleja, causa síntomas sistémicos como malestar, fiebre y cambios en proteínas y glóbulos blancos en la sangre, lo que a veces conduce a una respuesta inflamatoria sistémica. Se ha definido a la inflamación aguda como una inflamación que concierne a la respuesta inicial inmediata a la agresión, de corta duración (minutos a días) y que se caracteriza por alteraciones en el calibre vascular y el flujo sanguíneo, exudación de líquidos y proteínas plasmática y por acumulación de leucocitos (sobre todo polimorfonucleares) (Claramunt 2011, pp. 1-110).

2.2.2.2 *Manifestaciones clínicas*

La inflamación es un proceso fisiológico complejo que se manifiesta por una serie de síntomas clínicos únicos que reflejan las etapas secuenciales de la respuesta inmune a una lesión o infección. Según (Llanga 2022) estos indicadores clínicos incluyen:

Enrojecimiento o eritema: este fenómeno es el resultado de la telangiectasia, que aumenta el flujo sanguíneo a la zona afectada, provocando que la piel luzca más roja.

Tumor o hinchazón: acumulación de líquido inflamatorio, incluido plasma y células inmunitarias, en el tejido dañado, lo que provoca una hinchazón significativa.

Calor: El aumento de la temperatura local se asocia con vasodilatación en la zona inflamada y posterior aumento de la actividad metabólica.

Dolor: este síntoma es causado por la irritación de las terminaciones nerviosas que son sensibles a las sustancias químicas liberadas durante el daño y la inflamación del tejido.

2.2.2.3 *Clasificación de la inflamación*

Según (Villalba 2014) la inflamación se clasifica por:

- **Durabilidad:**

Inflamación aguda: La inflamación aguda es la rápida respuesta de defensa del cuerpo ante estímulos dañinos y está activa durante un corto período de tiempo, desde unas pocas horas hasta unos días. La intensidad y extensión de esta respuesta inflamatoria es directamente proporcional a la gravedad de la agresión sostenida y la capacidad del huésped para responder. Varios mediadores químicos participan en este mecanismo y desempeñan un papel fundamental en la regulación y propagación de la respuesta inflamatoria. Independientemente del agente nocivo involucrado, estos mediadores son consistentes y actúan de la misma manera, lo que significa que la inflamación aguda conduce a patrones estandarizados de respuesta en el cuerpo a diferentes tipos de lesiones.

Las fuentes de sustancias causantes de la inflamación pueden ser diferentes: biológicas, bacterias, virus, hongos y protozoos. Efectos físicos en forma de temperaturas extremas o radiación, tratamiento químico con sustancias ácidas o básicas o incluso daños mecánicos (p. ej. traumatismos). Independientemente de su naturaleza, el resultado de este ataque suele ser la destrucción celular y la necrosis tisular. Ante estos acontecimientos, el organismo inicia una reacción inflamatoria aguda, que se manifiesta en tres fenómenos principales: primero, vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo a la zona afectada; en segundo lugar, los cambios en la permeabilidad microvascular promueven la extravasación de proteínas plasmáticas y

leucocitos; En tercer lugar, los glóbulos blancos migran activamente al centro de la lesión para realizar la función fagocítica y limpiar el tejido dañado

Inflamación crónica: Es una respuesta inflamatoria que se mantiene con el tiempo, como consecuencia de una agresión persistente, durante semanas, meses o años. Puede darse bajo dos circunstancias:

- a. Continuación de una inflamación aguda: cuando la inflamación aguda no es capaz de resolver la agresión, por persistencia del agente causal.
- b. Reacción de tipo crónico desde el principio de la agresión: Son agentes de baja toxicidad, inducen una respuesta inmunológica:
 - Infección por organismos intracelulares: Tuberculosis, sífilis, micosis, etc.
 - Exposición a material inerte no degradable: Silicosis, material de sutura, cuerpos extraños diversos, etc.
 - Enfermedades autoinmunes: Lupus eritematoso, artritis reumatoide, etc.

- **La naturaleza del líquido inflamatorio:**

El líquido inflamatorio, que se acumula en los tejidos afectados durante la reacción inflamatoria, se puede dividir en dos tipos principales según su composición: trasudado y exudado.

El trasudado se define como líquido extravascular con bajo contenido proteico. Esta propiedad resulta de pequeños cambios en la permeabilidad vascular, lo que resulta en un aumento de la presión hidrostática intravascular y facilita la transferencia de líquido y pequeñas moléculas desde el vaso al espacio intersticial.

Por el contrario, los exudados son líquidos inflamatorios extravasculares ricos en proteínas que se producen cuando la permeabilidad vascular aumenta considerablemente. Estos cambios permiten que no sólo el líquido, sino también células y proteínas más grandes atraviesen las paredes de los vasos y entren en los espacios intersticiales, lo que da como resultado una densa acumulación de líquido proteico en el tejido afectado.

- **Carácter del exudado:**

Transudado: es la existencia de bajo volumen proteico en el líquido extravascular, siendo producto de una modificación leve en la permeabilidad vascular.

Exudado: es la aparición del elevado volumen proteico en el liquido inflamatorio extravascular y denotando alta absorcion en los vasos sanguineos.

- **La etiologia**

Infeciosas: causadas por bacterias, virus, parasitos o por toxinas microbianas.

Traumaticas: ocurre cuando ahí esguinces o higromas evidenciados a traves de golpes intensos con evidencia inmediata o tardia.

Termicas: resultan a efecto de las quemaduras a causa de calor o congelamiento.

- Irradiaciones.
- Por exposicion a agentes quimicos ambientales:
- Necrosis tisular
- Presencia de cuerpos extraños como astillas.
- Inmunitarias o reacciones de hipersensibilidad, a alergenos comunes o procesos colagenopaticos.

- **Características morfológicas:**

Serosa: es bajo volumen proteico causado por el almacenamiento de liquido tisular.

Fibrosa: se evidencia elevado volumen de fibrinogeno, debido a la presencia de exudado.

Purulenta: consta de leucocitos y celulas necroticas reconocidos por la produccion de exudados purulentos.

Abscesos: presenta necrosis licuefactiva en el tejido necrotico inflamado.

2.2.2.4 *Fases de la inflamación*

Se puede dividir en cinco etapas:

Libración de mediadores: Son moléculas, la mayoría, de estructura elemental liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo determinados estímulos.

Efecto de los mediadores: Producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio: Proceden mayoritariamente de

la sangre y de las zonas circundantes del foco.

Regulación del proceso inflamatorio: En esta cuarta etapa el fenómeno inflamatorio integra mecanismos que pretenden finalizar o equilibrarla para evitar una respuesta inmune exagerada.

Reparación: Fase constituida por fenómenos que determinarán la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor causal de la lesión eliminada o destruida.

2.2.3 Antiinflamatorios no esteroideos

2.2.3.1 Definición

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son un grupo de medicamentos diseñados para combatir la inflamación, aliviar el dolor y reducir la fiebre, y no forman parte del grupo de los esteroideos. Actúan interfiriendo con la actividad de la ciclooxigenasa (COX), una enzima que reduce la producción de prostaglandinas, moléculas que causan inflamación y dolor en el cuerpo. Los AINE se utilizan para tratar una variedad de afecciones inflamatorias, desde artritis hasta lesiones musculares, y sus efectos rápidos y eficaces los convierten en una opción popular para aliviar el dolor (Miranda y Palacios 2021). Aunque se usan ampliamente, es importante recordar que los AINE pueden causar efectos secundarios gastrointestinales y renales y deben usarse con precaución y bajo la supervisión de un profesional de la salud.

2.2.3.2 Modo de acción

El modo de acción de un fármaco es la forma específica en que un fármaco interactúa con el cuerpo para producir el efecto deseado. Es un proceso complejo que implica una serie de interacciones moleculares entre un fármaco y su objetivo biológico, como un receptor celular, una enzima o una proteína. Estas interacciones pueden incluir la activación o inhibición de ciertas vías metabólicas, la modulación de la señalización celular o cambios en la expresión genética. Algunos fármacos pueden unirse a receptores específicos de la superficie celular para desencadenar respuestas biológicas, mientras que otros pueden interferir con enzimas clave implicadas en procesos fisiológicos importantes. Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) actúan inhibiendo la enzima ciclooxigenasa (COX), reduciendo así la producción de prostaglandinas (sustancias químicas implicadas en la inflamación y el dolor). Ayuda a reducir los síntomas inflamatorios como el dolor y la hinchazón y brinda alivio a los pacientes afectados por diversos tipos de inflamación (Tornero y Montero 2021).

2.2.3.3 *Reacciones adversas más frecuentes*

Según (Cabo et al. 2020) nos da a conocer los efectos indeseables que presentan los aines van a depender en gran medida del fármaco que se esté utilizando, sin embargo, existen dos tipos de riesgos representativos por causa de la medicación de estos fármacos:

- **Riesgo cardiovascular:** usar estos medicamentos puede ser un alto riesgo de fenómenos trombóticos cardiovasculares, de ictus y de infarto de miocardio que pueden llegar a ser mortales. Este riesgo aumentará con relación a la duración del tratamiento, pero tendrá más riesgo en pacientes con enfermedades cardiovasculares.
- **Riesgo gastrointestinal:** ulceración, perforación y sangrado (2-4%), mayor riesgo de estas reacciones adversas en pacientes con antecedentes de úlcera péptica, intolerancia a otros AINEs, estas manifestaciones pueden presentarse durante el tratamiento con mayor o menor frecuencia ya que dependerá del organismo de la persona que los está ingiriendo. Los adultos mayores por su edad presentan un riesgo elevado de sufrir efectos graves gastrointestinales.

2.2.3.4 *Aplicaciones terapéuticas*

Según (Rosas et al. 2018) nos menciona que todos los aines son antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios, a excepción del paracetamol ya que es antipirético y analgésico, pero en gran parte está desprovisto de actividad antiinflamatoria. Los AINE tienen como principal aplicación clínica ser antiinflamatorios en el tratamiento de los trastornos músculo esqueléticos, como artritis reumatoide y artrosis.

Tienden a producir alivio sintomático en enfermedades inflamatorias agudas: fracturas lesiones deportivas, esguinces y otro tipo de lesiones del tejido blando. También son útiles para el tratamiento del dolor post operatorio, dental, menstrual, de cefaleas y migrañas.

2.2.3.5 *Mecanismo de acción de antiinflamatorios no esteroideos*

Estos fármacos actúan atravesando la membrana citoplasmática e interactuando con receptores específicos que se encuentran en el citoplasma de las células de los tejidos diana. La clave para que estos fármacos sean potentes antiinflamatorios radica en la inducción de la expresión de la macrocortina o lipocortina que es una proteína que inhibe la fosfolipasa A2 interfiriendo con la

producción de prostaglandinas leucotrienos y tromboxano, (sustancias proinflamatorias), de esta manera se disminuye su síntesis y su liberación (Rosas et al. 2018).

2.2.3.6 Diclofenaco sódico

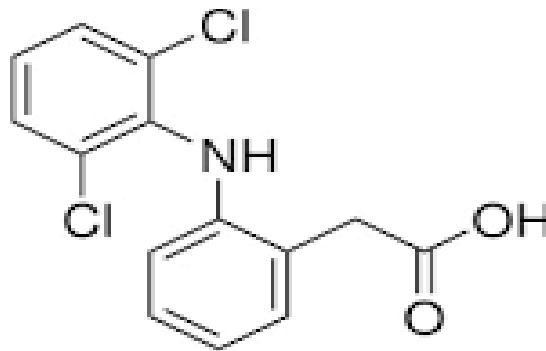


Ilustración 2: Estructura Química del Diclofenaco

Fuente: (F.C.Q.F.B. C de I del M 2019)

En diclofenaco es un AINE perteneciente a la familia de los derivados del ácido fenilacético, con una potencia parecida a la de los derivados de ácidos propiónicos, además de ser antiinflamatorio es uricosúrico y posee una actividad selectiva para inhibir la COX-2 (F.C.Q.F.B. C de I del M 2019).

2.2.3.6.1 Mecanismo de acción

El principal mecanismo de acción es la inhibición selectiva de la COX-2, y en menor grado inhibir la síntesis de las prostaglandinas las mismas que contribuyen al desarrollo de la inflamación, dolor y fiebre (VALVERDE 2019, pp. 22-23).

2.2.3.6.2 Farmacocinética

Tras la administración se comunicará en el líquido sinovial luego se metabolizan en el hígado gracias a la acción de la enzima CYP2C, se eliminará por la orina en un 65% y por la bilis en un 35% tras sufrir glucoronidación y sulfatación.

2.2.3.6.3 Posología

Antiinflamatorio: para el tratamiento de artritis y artrosis se administra en dosis de 100 a 200 mg/día, 2 veces al día o cuatro veces al día dependiendo la afección.

Analgésico: 50 mg cada 8 horas en procesos postoperatorios, para cólicos renales y administra 75 mg por vía intramuscular.

2.2.3.6.4 Reacciones adversas

Los efectos gastrointestinales son los más frecuentes, cifrando un 20 % y hasta un 2% se ven obligados a abandonar el tratamiento. Además, se ha reportado que se produce un ligero aumento de transaminasas hepáticas en el 15% de los pacientes siendo estas reversibles (VALVERDE 2019, pp. 22-23)

2.2.4 *Animales de experimentación*

2.2.4.1 *Animal de laboratorio*

Es definido como cualquier especie animal que, conservado bajo determinadas condiciones controladas es usado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para generar datos que serán utilizados como información en diversos estudios. El ratón es el animal más utilizado en el laboratorio por su pequeño tamaño, su fácil manejo y su bajo costo de mantenimiento comparado con especies de mayor tamaño (Ayala 2021).

2.2.4.2 *Clasificación taxonómica de ratones *Mus musculus**

Clase: Mamalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *musculus*

2.2.4.3 *Manejo y cuidado de ratones*

El cuidado de los animales de experimentación según (Fuentes et al. 2008) para tener a los biomodelos en buen estado de salud va a depender en su mayoría del personal que los cuide y su forma de trabajo para mantener barreras sanitarias con continuidad en el tiempo. En la cuarentena el ratón tiene que mantenerse por un tiempo en adaptación desde que fue adquirido hasta su uso, este periodo no es menor a 15 días, la finalidad de esto es tener ratones menos estresados y más sanos para obtener un mejor resultado en la investigación experimental que se está realizando.

Los animales deben recibir alimentos en cantidad y calidad suficiente para satisfacer sus necesidades. El acceso al alimento debe de ser libre y dosificado de acuerdo con los requerimientos necesarios, el alimento deberá ser suministrado a diario y éste se incrementará en el caso de ser necesario, todo va a depender del uso que se le va a dar. El agua debe cambiarse de manera diaria o, al menos, pasar un día, de igual manera, los frascos de agua deben lavarse y desinfectarse al menos dos veces a la semana.

Para iniciar la técnica de manipulación de ratones se debe tener un acercamiento con los animales, de forma que los animales no se estresen tan rápido, la forma más utilizada para la manipulación de ratones adultos y ratones jóvenes es levantar al animal tomándolo desde la base de la cola, lo más distalmente posible del punto medio con los dedos pulgar e índice, sin ejercer demasiada presión; se debe colocar de manera inmediata en la superficie deseada o darle apoyo en la palma de la mano hasta trasladarlo a un lugar definitivo. Una vez sujeto al animal por la parte proximal de la cola se lo debe colocar sobre una superficie rugosa para que se pueda sujetar con sus patas delanteras, con la otra mano se toma la piel del dorso inmediatamente por detrás de las orejas con los dedos índice y pulgar sin ejercer demasiada presión. Pero firme finalmente se debe tomar suficiente piel para inmovilizar al animal.

2.2.4.4 *Ventajas del uso de como animales de laboratorio*

El uso de ratón *Mus musculus*, ofrece las siguientes ventajas según (Fuentes et al. 2008) para los investigadores:

- Por su pequeño tamaño, son de fácil cuidado y mantenimiento.
- Los costos de manutención del ratón *Mus musculus* son bajos.
- Tienen una cepa definida.
- Poseen una diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- Tienen facilidad de reproductividad.
- Son de vida corta y se puede aprovechar todo su material biológico para realizar varias pruebas de ensayos crónicos en diferentes áreas por ejemplo la farmacología.

2.2.4.5 *Desventajas*

Entre las desventajas del uso de estos animales de experimentación (Fuentes et al. 2008), nos menciona las siguiente:

- Dificultad en la obtención de material biológico.
- Dificultad en usar la cánula correcta para administrar los extractos vegetales.
- Dificultad de los procesos usados en el laboratorio.

2.2.5 Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo

Se usa la prueba de edema plantar inducido por carragenina propuesto por Winter, este método consiste en la administración subcutánea o suplantar de una solución de carragenina a un nivel de la aponeurosis plantar del ratón, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (Mainato Coello 2022).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Enfoque, diseño y alcance

La presente investigación tuvo un enfoque cuantitativo con diseño experimental y alcance exploratorio, fundamentado en la determinación de la actividad antiinflamatoria in vivo en ratones del extracto etanólico de las hojas de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunth.

3.2 Diseño experimental

3.2.1 Población de estudio

La población de estudio fue de 40 ratones (*Mus musculus*) albinos hembras de 30 ± 3 g de 70 días, los cuales fueron inducidos al método de edema plantar para la evaluación de actividad antiinflamatoria.

3.2.2 Lugar de investigación

La investigación se la realizo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, en los laboratorios de Formulación Magistral, Productos Naturales y Bioterio.

3.2.3 Criterios de inclusión

- El peso de los ratones no debe variar de 30 ± 3 gr.
- Los ratones deben tener una edad de 70 días.
- Ratones hembra

3.2.4 Criterios de exclusión

- Ratones con un peso mayor a 33 g y menor a 27 g
- Ratones con edad mayor a 70 días.
- Ratones macho

3.2.5 Hipótesis

H0: "Ninguno de los tratamientos aplicados a diferentes concentraciones elaborados a base del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*, presenta efecto antiinflamatorio en los animales de experimentación.

$$H0: T1=T2=T3=T4=T5$$

H1: "Al menos uno de los tratamientos aplicados a diferentes concentraciones elaborados a base del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*, presenta efecto antiinflamatorio en los animales de experimentación.

$$H0: T1=T2 \neq T3=T4=T5$$

3.2.6 Identificación de variable

Variable dependiente: Eficacia antiinflamatoria: efecto del extracto sobre la inflamación inducida por carragenina en el modelo animal.

Variable independiente: Concentración del extracto etanólico de las hojas de mortiño *Vaccinium floribundum Kunth*: 30 mg/kg, 100 mg/kg y 300 mg/kg

3.3 Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.3.1 Equipos, materiales y reactivos

3.3.1.1 Equipos

Tabla 3-1: Equipos utilizados en la investigación

Técnicas	Equipos
Separar las muestras biológicas en fases	Centrifuga
Medir la absorbancia	Espectrómetro UV visible
Concentrar los extractos	Rota vapor
Homogeneizador de muestras	Vortex
Esterilizar materiales	Autoclave

Elaborado por: Manobanda V, 2023

3.3.1.2 Materiales

Tabla 3-2: Descripción de los materiales de laboratorio usados

Técnicas	Materiales
Recolección, triturado y almacenamiento del material vegetal	Papel aluminio
	Bolsa ziploc
	Papel filtro
Obtención y concentración	Frascos ámbar extracto
	Balones esmerilados
	Vasos de precipitación 1000ml
Preparación y administración	Tubos eppendorf
	Tubos falcon
	Jeringuillas de 1ml
	Cánula para ratones
	Algodón
Generación de inflamación	Vaso de precipitación 250ml
	Jeringa de 1ml
	Carragenina

Elaborado por: Manobanda V, 2023

3.3.1.3 Reactivos

Tabla 3-3: Reactivos usados en la investigación

Técnica	Reactivos
Preparación del vehículo	Propilenglicol Cloruro de sodio 0,9%
Preparación de control positivo	Diclofenaco sódico de 100mg
Generación de inflamación	Carragenina Cloruro de sodio 0.9%

Elaborado por: Manobanda V, 2023

3.3.2 Técnicas y métodos

3.3.2.1 Selección de la planta

La selección de *Vaccinium floribundum Kunth* se lo realizo en base a las cualidades de la planta como es antiinflamatoria, que es lo que se necesita para el desarrollo de la presente investigación.

3.3.3 Recolección de la planta

La materia vegetal de *Vaccinium floribundum Kunth* fue recolectada en la Provincia de Tungurahua, específicamente en la parroquia Pilahuín, a una latitud(Y): -78,7277812; longitud(X): -1.299677 y altitud: 3,054 m.s.n.m, este proceso se lo realizo mediante un muestreo aleatorio simple, para garantizar la calidad de las muestras recolectadas. Se recolecto las hojas con un color verde vivo, en buen estado que no se encuentren dañadas a causa de insectos, animales y factores ambientales como: lluvia, sol, viento.

3.3.3.1 Preparación del material vegetal

A continuación, en el flujograma, se detalla el proceso de la preparación de la materia vegetal de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*.

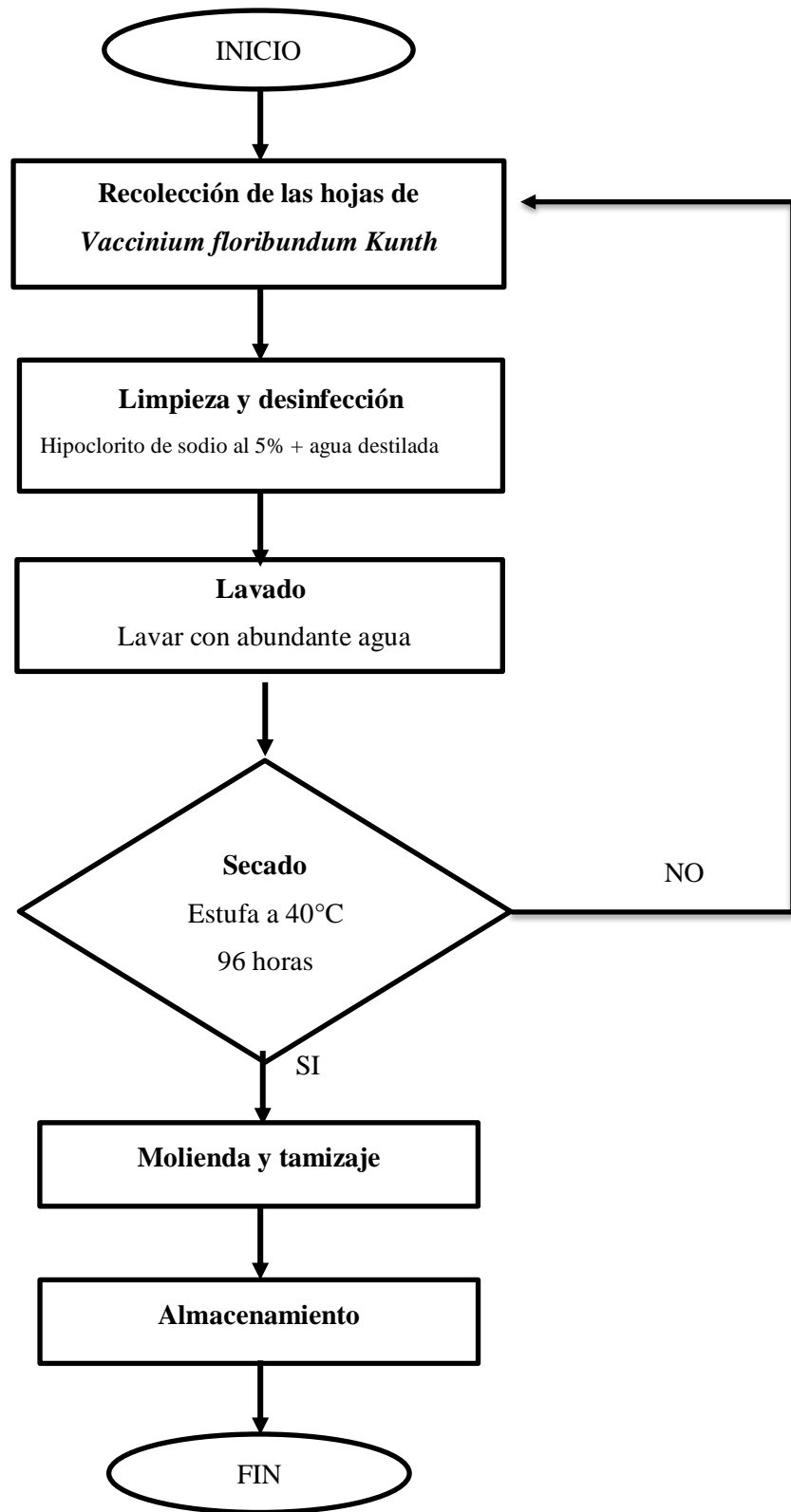


Ilustración 3 Preparación de la materia vegetal

Elaborado por: Manobanda V, 2024

3.3.3.2 Obtención del extracto etanólico

En la siguiente ilustración se indica el proceso de obtención del extracto etanólico

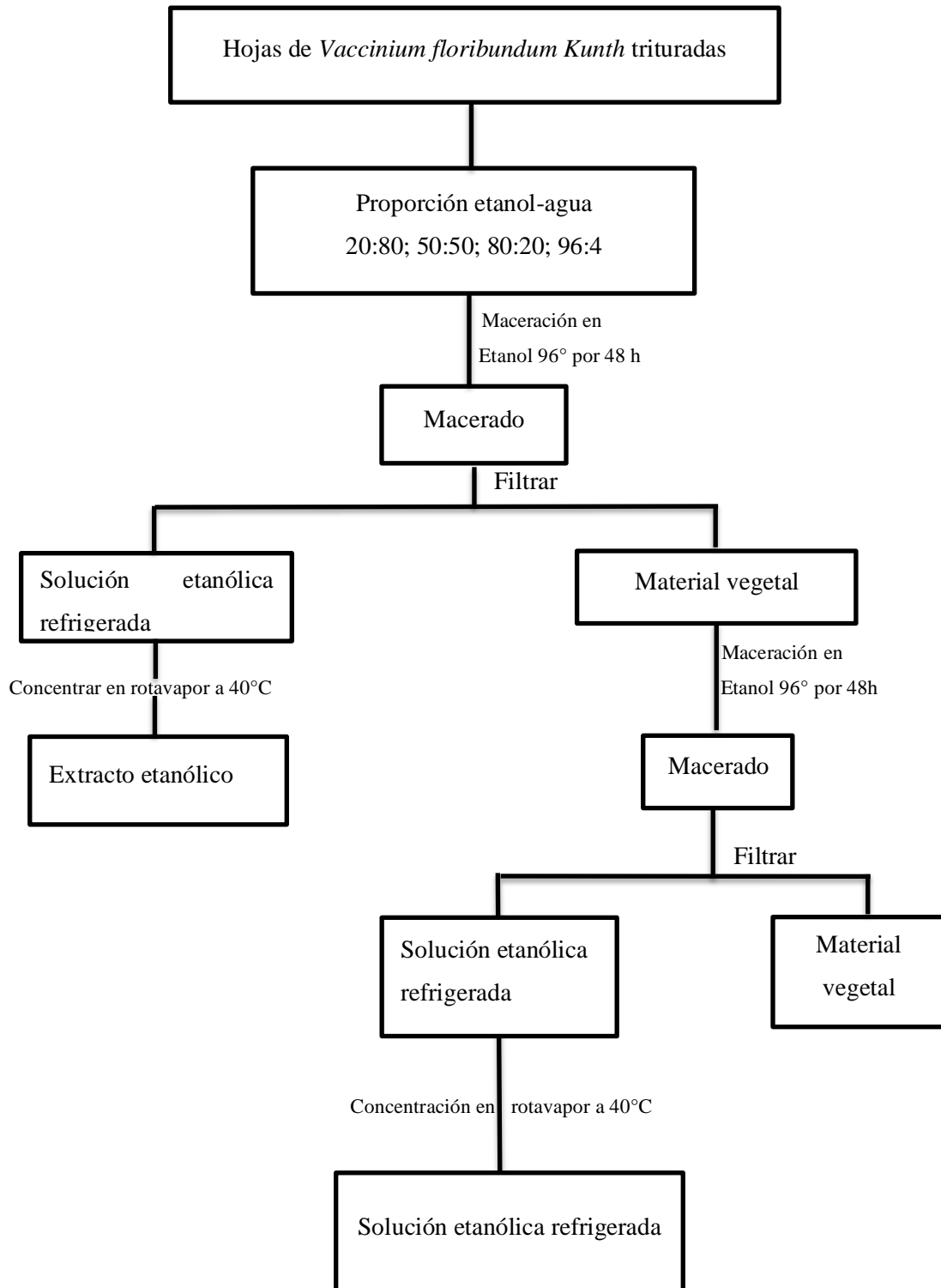


Ilustración 4 Obtención del extracto

Fuente: (Andrade y Murillo 2019)

Elaborado por: Manobanda V, 2024

3.3.4 Cálculo de porcentaje de rendimiento

El rendimiento de los extractos de las hojas de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunth, se calculó mediante la fórmula mencionada por (Cunalata 2023, pp. 26) , que describe a continuación.

$$\%Rendimiento = \frac{X_1}{X_0} \times 100$$

(1)

En la ecuación (1) se empleó para calcular el rendimiento de cada extracto.

Donde:

X₁: Peso del extracto después de la evaporación del solvente.

X₀: Peso seco del polvo vegetal antes de la extracción.

3.3.5 Cuantificación de fenoles y flavonoides

3.3.5.1 Fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño) se la realizó por un método espectrofotométrico, que se fundamenta en una reacción colorimétrica de óxido reducción, donde la sustancia oxidante fue el reactivo de Folin-Ciocalteu y el ácido gálico se utilizó como estándar de compuesto fenólico, obteniendo una curva de calibración con la ecuación que permitirá determinar el contenido de fenoles en los extractos etanólicos. La cuantificación de la muestra y estándar, se aplicará el siguiente proceso establecido por (Vinueza et al. 2017, pp. 161):

Para preparar una solución de los extractos etanólicos y el estándar de ácido gálico (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 ppm), se diluyo en 95 µL de agua destilada en una placa de 96 pocillos. A las soluciones preparadas, se añade 25 µL de solución de reactivo FolinCiocalteu. Después de 6 minutos, se adiciona 75 µL de Na₂CO₃ al 7% y se mezcla suavemente. La mezcla de reacción se mantiene en la oscuridad durante 2 h, y se midió su absorbancia a 765 nm frente a una solución en blanco, que se preparará según el procedimiento descrito anteriormente, excepto que la solución de extracto se sustituirá por 5 µL de agua, utilizando el lector de microplacas. El TPC se expresará como miligramos de equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g).

3.3.5.2 *Flavonoides totales*

La determinación de flavonoides totales de los extractos etanólicos de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño) se basa en una reacción colorimétrica que conlleva la formación de un complejo color rosado entre el AlCl_3 y los flavonoides presentes, siguiendo el proceso descrito por (Ochoa et al 2023, pp. 30-40):

Se procede a preparar una solución de los extractos etanólicos y el estándar, la cual deben estar diluidos en 180 μL de agua destilada. Se toma una alícuota de 30 μL de la solución preparada, y se distribuirá en una placa de 96 pocillos y se agregó 10 μL de una solución de NaNO_2 al 5%. Después de 6 min, se añadió 20 μL de una solución de AlCl_3 al 10% y se dejará reposar durante 6 min, luego de dejarle en reposo, a la mezcla se le adiciona 60 μL de una solución de NaOH al 4% y se dejará reposar durante otros 15 min. La absorbancia de la mezcla se determina a 510 nm frente a un blanco de agua preparado utilizando un lector de microplacas. Se empleó quercetina como estándar a diferentes concentraciones entre 10-100 ppm equivalentes a quercetina, obteniendo una curva de calibración con la ecuación que permitirá determinar la concentración de flavonoides presentes en los extractos etanólicos y los valores se expresarán como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de muestra (mg CE/g de muestra).

3.3.6 *Determinación de la actividad antioxidante*

3.3.6.1 *Método DPPH*

Para la determinación de la actividad de barrido de radicales de los extractos y fracciones contra el radical libre DPPH se basó el método de Brand-Williams, siguiendo el proceso establecido por (Guamán 2022, pp. 25-34):

En una placa de 96 pocillos se coloca 10 μL de las soluciones diluidas de los extractos etanólicos y solución de Trolox y se adiciona 190 μL de solución de DPPH (la concentración final será de 0,1 mM en metanol). La mezcla se agita suavemente y se deja reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos. A continuación, se medirá la absorbancia a 517 nm frente al metanol utilizando un lector de microplacas. La actividad de barrido de radicales DPPH de los extractos se calculará a partir de la curva estándar de Trolox y se expresará como micromoles de equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol TE/g}$) o se obtiene el porcentaje de captación de radicales DPPH utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{Ab_{DPPH} - Ab_{Muestra}}{Ab_{DPPH}} \times 100$$

(2)

Donde:

Ab_{DPPH} es la absorción es la solución control de DPPH;

Ab_{Muestra} es la absorción de la muestra

3.3.7 *Evaluación de actividad antiinflamatoria*

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se realiza pruebas mediante el método de edema plantar inducido por carragenina, para ello se realiza lo siguiente:

3.3.7.1 *Biomodelos del bioterio*

La adquisición de ratones (*Mus musculus*) se lo realizó en la Ciudad de Riobamba en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Bioterio de la Facultad de Ciencias, se solicitó mediante un oficio 40 ratones *Mus musculus* albinos hembras de 30g de 70 días.

3.3.7.2 *Ambientalización de biomodelos del bioterio*

Para la ambientación se distribuyó a 40 ratones en 6 cajas, cada una de estas conformadas por cinco unidades biológicas, durante 15 días se llevó un registro diario para conseguir un peso constante de 30 ± 3 gramos. Cada modelo animal fue etiquetado con una marca en la cola con marcadores de diferentes colores. De esta manera se realizará la medición de la inflamación usando el método de edema plantar usando carragenina, se establecieron 3 bloques experimentales de 30,100 y 300 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth y los 2 bloques sobrantes corresponden al control positivo (diclofenaco sódico 100 mg/kg) y control (carragenina)(Andrade y Murillo 2019).

3.3.7.3 Elaboración de los reactivos para evaluar la actividad antiinflamatoria

Tabla 3-4: Elaboración de reactivos a usarse en el método de edema plantar

Elaboración de reactivos	Proceso
Carragenina	Se peso 1g de carragenina y se disolvió en 100 ml de cloruro de sodio al 0,9% para obtener una solución de carragenina al 1% que se utilizó para producir inflamación en el modelo animal.
Control positivo	Se trituro 2 tabletas de diclofenaco sódico de 50 mg, luego se pesó 100 mg y se disolvió con propilenglicol al 15%, finalmente se aforo en un balón de 100ml con propilenglicol al 15%
Extracto a distintas concentraciones	Se peso 1g del extracto de las hojas de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth y se diluyo en 50 ml de propilenglicol. Se hicieron disoluciones para obtener 3 concentraciones de 30, 100 y 300 mg/kg de peso corporal.

Realizado por: Manobanda V, 2024

3.3.7.4 Modelo de edema plantar inducido por carragenina

Luego de los 15 días de ambientalización a los biomodelos de experimentación y una vez preparado los reactivos, se procede a realizar la evaluación de la actividad antiinflamatoria por el método de edema plantar.

- Luego de 12 horas de ayuno se inmovilizo y administro vía oral con una cánula a cada grupo experimental según corresponda, las distintas concentraciones del extracto y las soluciones de control positivo y grupo control.
- El volumen de dosificación se realizó de acuerdo con la concentración y peso del ratón.
- Después de una hora se inyectó 40 µl de carragenina al 1% en la pata trasera derecha.
- El volumen de la pata se medirá inmediatamente luego de la administración del agente inflamatorio (tiempo cero). Los datos del área de la zona inflamada se obtuvieron con la ayuda de una regla y el programa ImageJ, posteriormente cada hora hasta 6 horas realizando el mismo proceso.

Se realizó el cálculo del porcentaje de inhibición de la inflamación usando la siguiente fórmula:

$$\%inhibicion = \frac{(Ct - C0)control - (Ct - C0)tratado}{(Ct - C0)control} \times 100$$

(3)

La ecuación (3) se empleó para calcular el % de inhibición de la inflamación.

Donde:

Donde (**Ct – C0**) control es la diferencia de medidas de la pata a las 6 horas en el ratón control y (**Ct – C0**) tratado es la diferencia de las medidas de la pata a las 6 horas en cualquier ratón tratado con el extracto de la planta. (Andrade y Murillo 2019)

Tabla 3-5: Diseño de la evaluación de la “actividad antiinflamatoria” in vivo por edema plantar.

CÓDIGO	GRUPO	CANTIDAD DE ANIMALES	SUSTANCIA ADMINISTRAR	CONCENTRACIÓN
G0	Grupo blanco	5 ratones
G1	Grupo Control	5 ratones	Carragenina	40 µl
G2	Grupo positivo	5 ratones	Diclofenaco sódico	100mg/Kg 0,4 ml
G3-E	Grupo experimental	5 ratones		300mg/Kg (0,4mL)
G4-E	Grupo experimental	5 ratones	Extracto de <i>Vaccinium</i>	100mg/Kg (0,4mL)
G5-E	Grupo experimental	5 ratones	<i>floribundum</i> <i>Kunth</i>	30mg/Kg (0,4mL)

Elaborado por: Manobanda V, 2024

3.3.8 Análisis de datos

Los resultados cuantitativos se evaluaron por el programa SPSS, por medio del test ANOVA de un factor, que nos ayudó a identificar si existe diferencia significativa entre grupos de tratamiento investigados, con una probabilidad $p < 0,05$. Realizando el planteamiento de la hipótesis, siendo las siguientes:

H₀: no existe diferencia significativa entre los tratamientos administrados a los animales de experimentación $p \geq 0,05$

H1: existe diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos administrados $p < 0,05$
Se concluye que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, pero si se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa para que uno de los tratamientos tiene diferencia se realiza el test de Tukey-B donde se determina en cuál de los grupos de tratamiento existe la diferencia significativa con ayuda del porcentaje de inhibición.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los extractos etanólicos de *Vaccinium floribundum* Kunth, y la evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo se presentan a continuación.

4.1 Determinación de fenoles y flavonoides en las hojas de mortiño.

4.1.1 Rendimiento de los extractos etanólicos de las hojas de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunth

El mayor porcentaje de rendimiento fue de 28,779 % de la muestra etanólica de 50% de etanol y 50% agua, como se indica en la tabla 4-1. Según (García, 2016) el rendimiento de la extracción depende en gran medida de la polaridad del disolvente empleado en el proceso. El uso de etanol, metanol y sus mezclas con agua en diferentes proporciones como solventes de extracción, sin embargo, no existe un método y solvente definido, ya que dependerá de la composición química de los compuestos a extraer, el tamaño molecular, y diversos factores como la temperatura, tamaño de la partícula, concentración del solvente y relación masa-solvente.

Tabla 4-1: Rendimiento de los extractos

Extracto etanólico	Concentración (etanol: agua)	Rendimiento
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (hojas)	20:80	13,987 ± 9,880
	50:50	28,459 ± 6,128
	80:20	24,770 ± 4,121
	96:4	25,603 ± 8,157

Elaborado por: Manobanda V, 2024

En la tabla 4-1., se visualizó que el extracto con 50% de alcohol y 50% de agua, es el que presenta mayor rendimiento, Según (Benítez, 2019), esto se debe a que, el mejor método para aplicar es utilizar la materia molida, porque la fracción de la partícula facilita el contacto entre el solvente y el soluto. Además, la interacción de las partículas favorece el rendimiento de la extracción, esto

fue comprobado gracias a la comparación del efecto de agitación y no agitación aplicada en el estudio realizado.

De acuerdo con la investigación realizada por (Guamán Poaquiza, 2022), uno de los factores que influyen directamente en el proceso de extracción, es el contacto directo entre el solvente y el material vegetal. Por lo que, esta variabilidad puede atribuirse al hecho de que, en el estudio citado se realiza una extracción hidroalcohólica de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth con periodos cortos de agitación durante 48 horas, mientras que, en la presente investigación, los recipientes del macerado se mantuvieron estáticos. Por otro lado, el rendimiento de *Vaccinium floribundum* Kunth mediante extracción hidroalcohólica fue del 11,189 %, siendo este levemente inferior en comparación con el porcentaje de rendimiento obtenido del extracto etanólico realizado en este estudio.

Acorde a lo mencionado por (Moncayo, 2018), se obtuvo un rendimiento del extracto de *Vaccinium meridionale* de 19.44%, con un tiempo de 45 minutos a una concentración 1:10 residual-disolvente. En comparación con los resultados de la tabla 4-1, se determinó un rendimiento de 28,779% ligeramente superior al reportado en esta investigación.

En la tabla 4-1, se puede observar que el mejor rendimiento de *Vaccinium floribundum* Kunth es del 50% alcohol y 50% de agua referente a las hojas de mortiño. De acuerdo con (Morales, 2021), el rendimiento de extracción depende de factores como el tiempo temperatura, maduración de la planta o fruto y la pureza del disolvente. En el proceso de deshidratación del mortiño *Vaccinium meridionale*, tuvo un rendimiento del 23,34% siendo ligeramente inferior al valor obtenido en el presente estudio. Esta diferencia puede deberse a que en este caso se realiza un proceso de deshidratación, ya que la materia prima tiene un 80% de agua.

4.2 Cuantificación de fenoles totales

Tabla 4-2: Cuantificación del contenido de fenoles totales de las hojas de mortiño.

Extracto etanólico	Concentración (etanol: agua)	Fenoles totales mg EAG/g
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (hojas)	20- 80	53,3107 ± 1,4108
	50-50	73,6278 ± 1,2691
	80-20	71,6442 ± 2,0513
	96-4	58,2087 ± 2,4058

Elaborado por: Manobanda V, 2024

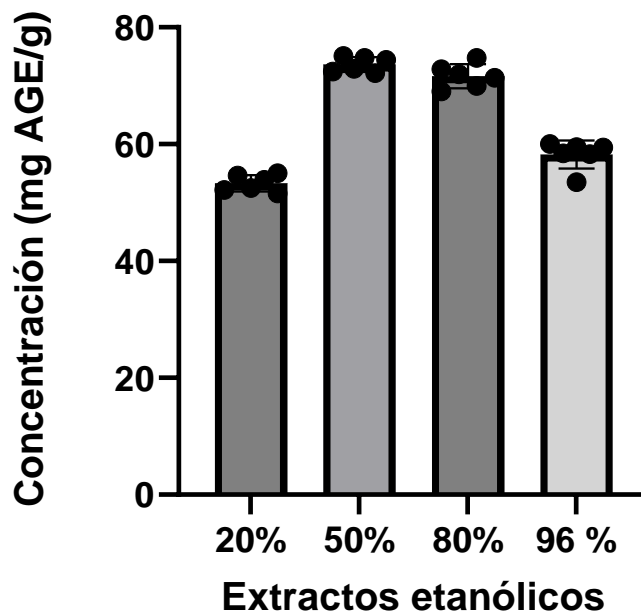


Ilustración 5 Cuantificación de fenoles totales en las hojas de mortiño.

Elaborado por: Manobanda V, 2024

El extracto etanólico de las hojas *Vaccinium floribundum* Kunth presentó un contenido fenólico notable, lo cual es altamente relevante y óptimo para futuras investigaciones. En particular, el extracto obtenido con una concentración de 50% de etanol y 50% de agua dio como resultado un valor de $73,6278 \pm 1,2691$ miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo (mg EAG/g). Esta diferencia es notable en comparación con el extracto etanólico preparado con una concentración de 20% de alcohol y 80% de agua. Estos hallazgos sugieren que una concentración mayor o igual al 50% de alcohol en el solvente van a favorecer para obtener una extracción eficaz del contenido fenólico de las hojas de mortiño.

En un estudio realizado por (González, 2022), menciona que las hojas de *Vaccinium leucanthum* de los extractos hidroalcohólicos con etanol al 96% realizados por el método de maceración se obtuvo un contenido de fenoles totales de $88,14 \pm 0,50$ mg EAG/ g del extracto, estos compuestos fenólicos presentan diversas funciones como capacidad antioxidante, antibacteriana y antiinflamatoria. Los resultados obtenidos en el estudio pueden ser una alternativa para prevenir el estrés oxidativo y el tratamiento de algunas enfermedades. En el presente estudio la mayor cantidad de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth fue de $73,6278 \pm 1,2691$ mg EAG/g a una concentración 50:50 (etanol-agua). (Aguado et al. 2013) menciona que los alcoholes son ácidos más débiles que el agua y que en sistemas biológicos están considerados como neutros para lo cual en la investigación realizada, emplearon combinaciones o relaciones de 50:50 en las cuales obtuvieron mayor concentración de fenoles y flavonoides.

Tabla 4-3.: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de fenoles totales.

Pruebas de Múltiple Rangos Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	P valor ajustado
MH 20% - MH 50%	*	-20,3172	2,98041	0,000
MH 20% - MH 80%	*	-18,3335	2,98041	0,000
MH 20% - MH 96%	*	-4,898	2,98041	0,001
MH 50% - MH 80%		1,98367	2,98041	0,275
MH 50% - MH 96%	*	15,4192	2,98041	0,000
MH 80% - MH 96%	*	13,4355	2,98041	0,000

* indica una diferencia significativa.

Elaborado por: Manobanda V, 2024

La prueba de comparación múltiple se realizó mediante el análisis estadístico, el cual afirmó que todas las variables examinadas cumplían con la hipótesis establecida, dado que el nivel de significancia resultó ser inferior a 0,05. En la tabla 4-3 observamos la aplicación de la prueba de Tukey para realizar las comparaciones entre grupos.

En la tabla 4-3 verificamos si hay diferencia significativa entre las concentraciones de extractos ya que son inferiores a 0,001, excepto la concentración de 50% con 80%, ya que son significativamente similares, el contenido de fenoles a comparación con los demás extractos, esto significa que al tener valores estadísticamente similares si se utiliza una concentración de 50% o a su vez 80% obtendremos una buena cantidad de fenoles totales. También debemos tener en cuenta que, al realizar esta comparación, la influencia de los solventes usados en el proceso de extracción va a afectar sobre la concentración de metabolitos secundario, fenoles totales presentes en las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth.

4.3 Cuantificación de flavonoides totales

Tabla 4-4: Cuantificación del contenido de flavonoides totales de las hojas de mortiño.

Extracto etanólico	Concentración (etanol: agua)	Flavonoides totales mg EQ/g
--------------------	---------------------------------	--------------------------------

	20-80	23,209 ± 9,6789
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (hojas)	50-50	190,047 ± 13,528
	80-20	161,380 ± 14,500
	96-4	182,047 ± 9,6144

Elaborado por: Manobanda V, 2024

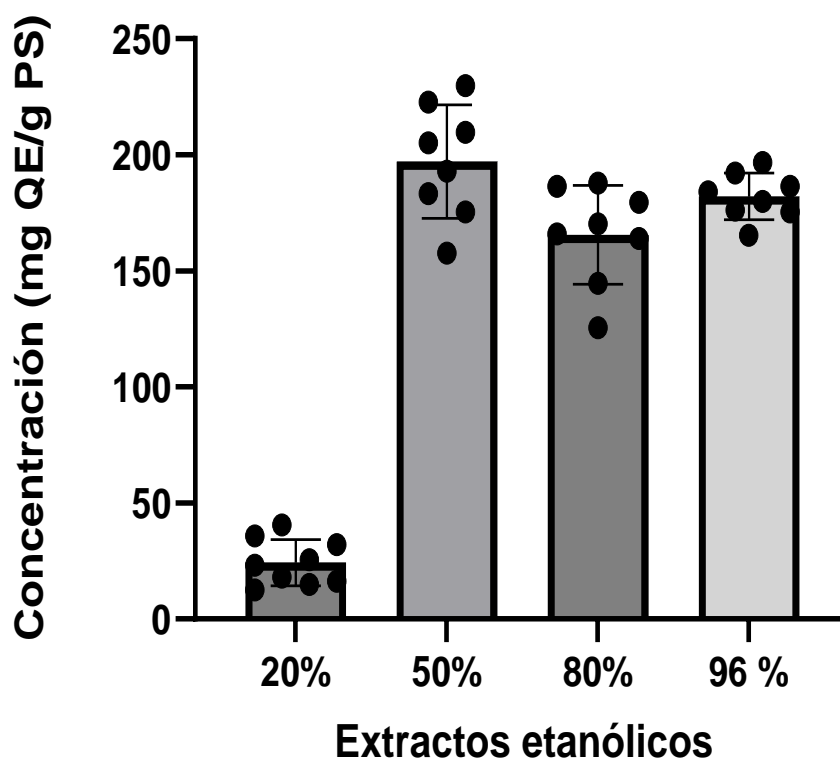


Ilustración 6 Cuantificación de flavonoides totales en las hojas de mortiño

Elaborado por: Manobanda V, 2024

El extracto etanólico que se obtuvo de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth, presentó un contenido de flavonoides totales, lo cual será de gran ayuda para próximas investigaciones relacionadas con el tema científico. En específico, el extracto obtenido con una concentración de 50% de alcohol y 50% de agua dio como resultado un valor de 190,047 ± 13,528 miligramos de equivalentes de quercetina por gramo (mg EQ/g). Existe una diferencia notable en comparación con el extracto etanólico preparado con una concentración de 20% de alcohol y 80% de agua. Estos hallazgos sugieren que una concentración mayor o igual al 50% de alcohol en la extracción de las hojas de mortiño, será un factor importante para obtener una extracción eficaz del contenido flavonoides de *Vaccinium floribundum* Kunth.

Una investigación realizada por (González, 2022) de las hojas de *Vaccinium leucanthum* obtiene una concentración de flavonoides totales de 63.46 ± 0.08 mg EQ/g este resultado se obtiene del

extracto hidroalcohólico con el método de maceración con etanol al 60%, se lo dejó reposar durante 24 horas en un lugar oscuro, en la tabla 4-4 podemos observar que el extracto de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth, etanol – agua 50:50 obtenemos un contenido de flavonoides totales de $190,047 \pm 13,528$ en comparación con la investigación antes mencionada tiene un valor significativamente bajo a comparación de otras fuentes bibliográficas. No existe investigaciones acerca del contenido de flavonoides totales de las hojas de mortiño es por ello que se realiza una comparación con un estudio donde evalúan el contenido de flavonoides presentes en las hojas de *Vaccinium leucanthum*.

Tabla 4-5: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de flavonoides totales.

Pruebas de Múltiple Rangos Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
MH 20% - MH 50%	*	-166,837	22,5625
MH 20% - MH 80%	*	-142,326	23,9311
MH 20% - MH 96%	*	-158,837	23,9311
MH 50% - MH 80%	*	24,5116	23,9311
MH 50% - MH 96%		8,0	23,9311
MH 80% - MH 96%		-16,5116	25,2256

* indica una diferencia significativa.

Elaborado por: Manobanda V, 2024

La prueba de comparación múltiple se realizó mediante el análisis estadístico, el cual afirmó que todas las variables examinadas cumplían con la hipótesis establecida, dado que el nivel de significancia resultó ser inferior a 0,05. En la tabla 4-4 observamos la aplicación de la prueba de Tukey para realizar las comparaciones entre grupos.

Se evidencia en la tabla 4-4 que sí existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de extractos ya que son inferiores a 0,001, a excepción de la concentración de 50% con 96% y 80% y 96% ya que son estadísticamente similares, el contenido de flavonoides

a comparación con los demás extractos, esto quiere decir que al tener valores estadísticamente similares sí se utiliza una concentración de 50%, 80% o 96% vamos a obtener un alto contenido de flavonoides totales presentes en el extracto de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*.

4.4 Determinación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos vegetales de *Vaccinium floribundum Kunth* se evaluaron utilizando el método DPPH. En la tabla 4-5, indica la actividad antioxidante expresada como el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH, además se proporcionan los valores de equivalentes de Trolox $\mu\text{mol/L}$.

Tabla 4-6: Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*.

Concentración del extracto de las hojas de <i>Vaccinium floribundum Kunth</i>	% de Inhibición	μmol Equivalente Trolox/L
20:80	59,546 \pm 4,803	51,517 \pm 0,116
50:50	65,815 \pm 1,441	51,770 \pm 0,089
80:20	59,461 \pm 1,456	51,513 \pm 0,041
96:4	57,077 \pm 1,911	51,417 \pm 0,057

Realizado por: Manobanda V, 2024

Los antioxidantes son compuestos que interactúan de forma segura con los radicales libres, terminando la reacción antes de que ocasionen daños a las moléculas vitales, es decir reducen o inhabilitan la oxidación de otras moléculas (Guamán Poaquiza, 2022). El extracto etanólico derivado de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*, dio como resultado que el extracto etanólico a una concentración 50% etanol y 50% de agua tiene un % de inhibición de 65,815 \pm 1,441, y μmol de equivalentes de Trolox/L de 51,770 \pm 0,089.

En un estudio realizado por (Guamán Poaquiza, 2022), para la determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de la especie *V. floribundum Kunth* se llevó a cabo por la técnica de

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Se evidencia que el resultado de la actividad antioxidante del extracto de la hoja de mortiño posee un % de Inhibición de $86,422 \pm 0,275$, siendo este resultado superior al obtenido en el presente estudio, esto puede deberse a diferentes factores con los cambios climáticos, la zona geográfica y la pureza del disolvente.

Tabla 4-7: Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD de actividad antioxidante

Pruebas de Múltiple Rangos Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
MH 20% - MH 50%	*	-6,2681	3,84122
MH 20% - MH 80%		0,0851644	3,84122
MH 20% - MH 96%		2,46977	3,84122
MH 50% - MH 80%	*	6,35326	3,84122
MH 50% - MH 96%	*	8,73786	3,84122
MH 80% - MH 96%		2,3846	3,84122

* indica una diferencia significativa.

Elaborado por: Manobanda V, 2024

La prueba de comparación múltiple se realizó mediante el análisis estadístico, el cual afirmó que todas las variables examinadas cumplían con la hipótesis establecida, dado que el nivel de significancia resultó ser inferior a 0,05. En la tabla 4-7 observamos la aplicación de la prueba de Tukey para realizar las comparaciones entre grupos. Podemos observar que sí existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de extractos ya que son inferiores a 0,001, de acuerdo con el contenido de actividad antioxidante del extracto de las hojas de *Vaccinium floribundum Kunth*.

4.5 Inducción y evaluación del Método de Edema Plantar con carragenina

Las mediciones de la evaluación de la actividad antiinflamatoria se las realizaron con la ayuda del programa ImageJ, los resultados obtenidos antes y después de la administración de los tratamientos previa inducción de la inflamación se muestran a continuación.

4.5.1 Resultados de disminución de la inflamación

Tabla 4-8: Porcentaje de inflamación de acuerdo con el tiempo y tratamientos.

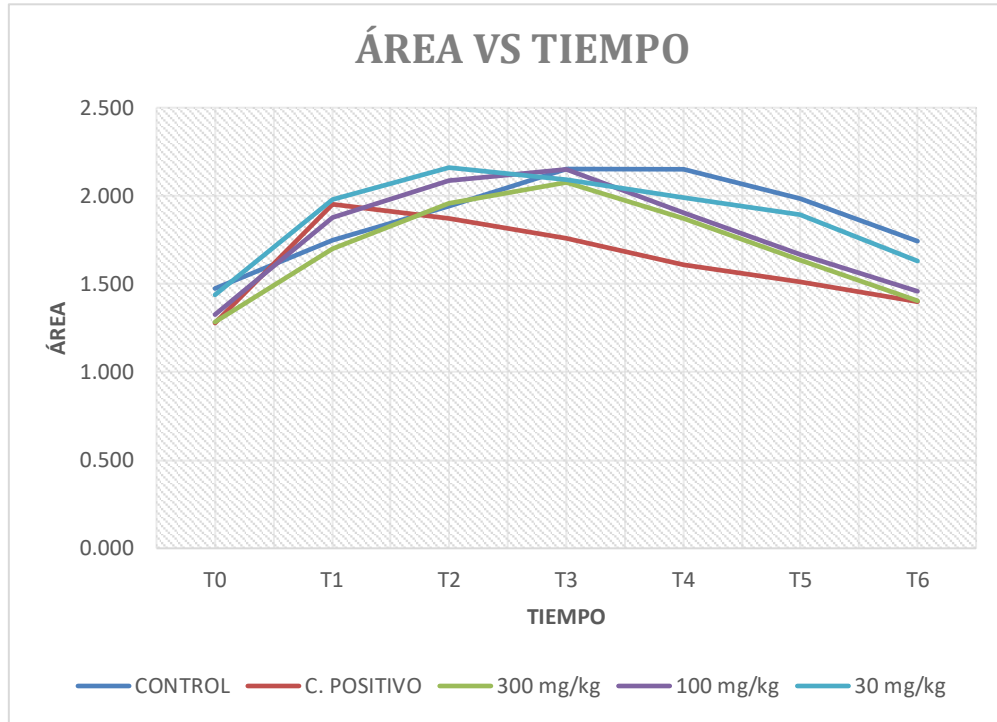
ÁREAS DE INFLAMACIÓN DE CADA TRATAMIENTO							
TRATAMIENTOS	TIEMPO DE MEDICIÓN (Horas)						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Control (carragenina)	1,474	1,750	1,942	2,152	2,150	1,982	1,742
Diclofenaco sódico 100 mg/kg)	1,278	1,952	1,874	1,758	1,610	1,510	1,398
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth 300 mg/kg	1,284	1,702	1,960	2,076	1,872	1,636	1,406
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth 100 mg/kg	1,326	1,876	2,084	2,150	1,902	1,670	1,458
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth 30 mg/kg	1,438	1,978	2,160	2,094	1,990	1,892	1,630

Elaborado por: Manobanda V, 2024

En la tabla 4-6, se indica las áreas de las patas de los animales de experimentación con inflamación que va desde el tiempo 0(C0) hasta el tiempo 6 (Ct), para obtener los datos de las áreas de reducción de inflamación de cada animal se realizó mediante la ecuación (3), con estos datos podemos verificar que el grupo control tiene una reducción de inflamación de $0,268cm^2$, grupo control positivo (Diclofenaco sódico) tiene una reducción de $0,120cm^2$, los extractos de *Vaccinium floribundum* Kunth tanto de 100 mg/kg y 300 mg/kg tienen una reducción de $0,132cm^2$ y $0,122cm^2$ mostrando que los dos extractos tiene una relación con el grupo control positivo, mientras que el extracto a una concentración de 30 mg/kg reduce $0,192cm^2$, dando a

notar que a esta concentración no tiene una alta actividad antiinflamatoria al igual que el grupo control.

Gráfico 4-1: Áreas de inflamación acorde al tiempo



Elaborado por: Manobanda V, 2024

En el gráfico 4-1, se indica las áreas de

inflamación acorde con el tiempo se puede ver que la inflamación va aumentando durante el tiempo (T1- T3), y va reduciendo desde el tiempo (T4 – T6). En este caso se pudo comparar el diclofenaco sódico y los extractos a 300 y 100 mg/kg similares al momento de reducir la inflamación, mientras que el grupo control y el extracto a 30 mg/kg tarda más tiempo en reducir la inflamación.

Tabla 4-9: Porcentaje de inhibición de la inflamación de cada tratamiento

	Control (carragenina)	Diclofenaco sódico 100 mg/kg	300 mg/kg	100 mg/kg	30 mg/kg
% de Inhibición	0	55,22	54,48	50,75	28,36
SD	-	7,46	8,09	12,76	14,78

Elaborado por: Manobanda V, 2024

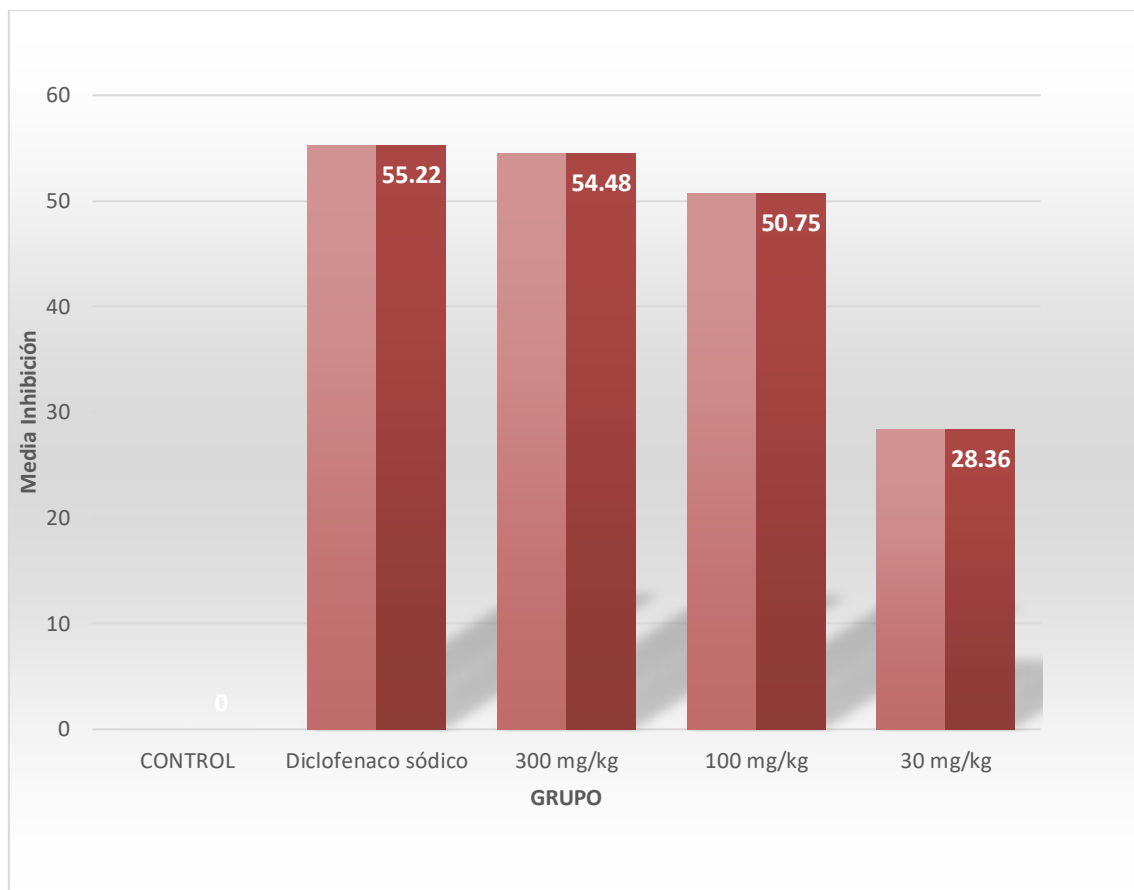


Ilustración 7 Porcentaje de inhibición de la inflamación de cada tratamiento de acuerdo con el tiempo

Elaborado por: Manobanda V, 2024

En la ilustración (7), donde se aplicó carragenina al 1%, la inflamación se encuentra a 0% no se presentó ningún porcentaje de inhibición de la inflamación, en los grupos que se aplicó diclofenaco sódico y el extracto en 3 concentraciones diferentes, presenta una inhibición de la inflamación, siendo el de mayor relevancia el de la muestra del grupo 5 donde se aplicó *Vaccinium floribundum Kunth* 300 mg/kg de peso corporal.

Un estudio realizado por (Lara Torres, 2016), se evaluó el efecto preventivo y antiinflamatorio del arándano rojo en el desarrollo de la colitis ulcerativa experimental, se administró una dosis de 100 mg/kg/día por vía intragástrica durante 34 días a ratas Wistar sanas, posteriormente se indujo el modelo de colitis ulcerativa, dando como resultado que el arándano rojo tiene un gran potencial para tratar enfermedades gastrointestinales inflamatorias. Por otro lado, tanto la secreción como la expresión de IL6 y TNF- α , disminuyeron significativamente en las ratas tratadas con el extracto de arándano rojo.

4.6 Análisis estadístico

Tabla 4-10: Análisis estadístico AN OVA de los tratamientos.

TEST ANOVA					
% De Inhibición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Valor P
Entre grupos	11336,570	4	2834,143	28,193	0,000
Dentro de grupos	2010,536	20	100,527		
Total	13347,106	24			

Elaborado por: Manobanda V, 2024

El análisis estadístico ANOVA con un nivel de confianza del 95%, nos da como valor de p menor que 0,05 por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa ya que existe una diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos aplicados. Se procedió a realizar el test de Tukey y Dunnett con una confianza del 95% para determinar en cuál de los tratamientos existe una diferencia significativa.

Tabla 4-11 Análisis estadístico con Test Tukey y Dunnett

Comparaciones múltiples							
	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Valor p	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Control	300 mg	-54,477200*	6,341192	,000	-73,45242	-35,50198
		100 mg	-50,746400*	6,341192	,000	-69,72162	-31,77118
		30 mg	-28,358200*	6,341192	,002	-47,33342	-9,38298
		Diclofenaco sódico	-55,224000*	6,341192	,000	-74,19922	-36,24878
	300 mg	control	54,477200*	6,341192	,000	35,50198	73,45242
		100 mg	3,730800	6,341192	,975	-15,24442	22,70602
		30 mg	26,119000*	6,341192	,004	7,14378	45,09422
		Diclofenaco sódico	-,746800	6,341192	1,000	-19,72202	18,22842
	100 mg	control	50,746400*	6,341192	,000	31,77118	69,72162
		300 mg	-3,730800	6,341192	,975	-22,70602	15,24442
		30 mg	22,388200*	6,341192	,016	3,41298	41,36342
		Diclofenaco sódico	-4,477600	6,341192	,953	-23,45282	14,49762
	30 mg	control	28,358200*	6,341192	,002	9,38298	47,33342
		300 mg	-26,119000*	6,341192	,004	-45,09422	-7,14378
		100 mg	-22,388200*	6,341192	,016	-41,36342	-3,41298
		Diclofenaco sódico	-26,865800*	6,341192	,003	-45,84102	-7,89058
	Diclofenaco sódico	control	55,224000*	6,341192	,000	36,24878	74,19922
		300 mg	,746800	6,341192	1,000	-18,22842	19,72202
		100 mg	4,477600	6,341192	,953	-14,49762	23,45282
		30 mg	26,865800*	6,341192	,003	7,89058	45,84102
T de Dunnett (bilateral) ^b	Control	Diclofenaco sódico	-55,224000*	6,341192	,000	-72,03477	-38,41323
	300 mg	Diclofenaco sódico	-,746800	6,341192	1,000	-17,55757	16,06397
	100 mg	Diclofenaco sódico	-4,477600	6,341192	,888	-21,28837	12,33317
	30 mg	Diclofenaco sódico	-26,865800*	6,341192	,001	-43,67657	-10,05503

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

b. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

Elaborado por: Manobanda V, 2024

Tabla 4-12: Test de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Porcentajes de inhibición de cada tratamiento			
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa =0.05	
Control (carragenina)	5	0,00000	
30 mg/kg extracto (<i>Vaccinium floribundum</i> <i>kunth</i>)	5	28,35820	
HSD Tukey^a 100 mg/kg extracto (<i>Vaccinium floribundum</i> <i>kunth</i>)	5	50,74640	
300 mg/kg extracto (<i>Vaccinium floribundum</i> <i>kunth</i>)	5	54,47720	
Diclofenaco sódico 100 mg/kg	5	55,22400	
Valor p		1,000	1,000
			0,953

Elaborado por: Manobanda V, 2024

Mediante en Test de Tukey evidenciamos si existe una diferencia significativa entre los tratamientos o si existe una relación entre los tratamientos, mientras que el Test de Dunnett nos permite comparar los grupos estándar como el Diclofenaco sódico. En la tabla 4-10 se muestra un grupo control (carragenina) en el cual observamos que no disminuye la inflamación, el tratamiento de 30 mg/kg del extracto de las hojas presenta actividad antiinflamatoria pero la disminución de inflamación es muy baja. El tratamiento 300 mg/kg y 100 mg/kg del extracto de las hojas de mortiño presenta una relación con el grupo tratado con Diclofenaco sódico 100 mg/kg, considerando estos resultados son significativamente similares.

4.6.1 Determinación del extracto etanólico con mejor actividad antiinflamatoria

Se realizó la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth a distintas concentraciones para evaluar cuál de las dosis tiene mejor actividad antiinflamatoria, al realizar la parte experimental y con la ayuda de análisis estadístico obtenemos que las tres dosificaciones como 30, 100 y 300 mg/kg son efectivas pero existen dos extractos que tienen mejor actividad antiinflamatoria como son 100mg/kg y 300

mg/kg ya que tienen un efecto antiinflamatorio similar al Diclofenaco sódico 100 mg/kg. No existen estudios donde nos den a conocer una dosis exacta del extracto de las hojas de mortiño que ayuden a disminuir la inflamación, en este estudio realizado obtenemos que la dosis de 300 mg/kg tiene mayor actividad antiinflamatoria esto puede deberse a que se utilizó el extracto con 50 % etanol y 50 % agua que tiene una mayor concentración de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante, esto ayuda a que existe un mayor porcentaje de inhibición de la inflamación en los animales de experimentación.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se determinó que el extracto etanólico 50:50 etanol-agua de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth presento un alto contenido de fenoles y flavonoides totales, esto es importante para investigaciones futuras.
- Mediante la técnica de edema plantar se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Vaccinium floribundum* Kunth a distintas concentraciones, dando como resultado que las hojas de mortiño presentan actividad antiinflamatoria.
- Se determinó que la mejor concentración administrada en los animales de experimentación fue de 100 y 300 mg/kg mostrando así que las hojas de mortiño presentan potencial antiinflamatorio.

5.2 Recomendaciones

- Implementar un protocolo para el cuidado y manejo de animales de experimentación para obtener resultados óptimos en investigaciones futuras.
- Realizar investigaciones para evaluar la actividad antiinflamatoria de las hojas de mortiño en otros modelos animales además de los ratones, como ratas o modelos animales con enfermedades específicas, para obtener resultados acerca de su potencial terapéutico.
- Tener conocimiento sobre bioética en animales de experimentación.
- Realizar estudios in vitro para ver la toxicidad del extracto etanólico de las hojas de mortiño.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AGUADO, María Inés et al.** “Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de un extracto etanólico de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (Verbenaceae)”. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas* [En línea], 2013, vol. (44). [consultado el 15 de octubre de 2023]. ISSN 10273956. Disponible en:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952013000300006&script=sci_abstract
2. **ALARCÓN BARRERA, Karina.Silvana.** “*Estudio de la composición química y la capacidad antioxidante de un extracto polifenólico del mortiño proveniente de diferentes regiones de Ecuador*” [en línea]. Tesis. Quito: Universidad de las Américas. 2018. págs. 34-45. [consulta: 19 septiembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11043>
3. **ALVARADO et al.** “*Plan de Internacionalización del mortiño al mercado de Corea del Sur*” [en línea]. (Trabajo de titulación) (tesis pregrado). Cuenca: Universidad del Azuay. 2022.págs. 20-34. [Consulta: 20 enero de 2024]. Disponible en: <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/11891>.
4. **ANDRADE CÁCERES, José David y MURILLO MALA, Marco Andrés** “*EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE Aristeguietia glutinosa EN RATONES Mus musculus*”. [En línea] (Trabajo de titulación) (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. 2019. [consultado el 20 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/13085>
5. **AYALA, Miguel Ángel.** El ratón como animal de experimentación. *Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio* [en línea]. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 2021, págs. 128–141. [consulta: 25 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/130045>
6. **BENÍTEZ BENÍTEZ, Ricardo et al.** “Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales”. *Revista Facultad de Ciencias Básicas* [en línea], 2020, (Colombia) vol.15 (1), págs. 31-40. [Consulta: 20 de noviembre 2023]. ISSN 2500-5316. Disponible en: <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>

7. **CABO et al. 2020.** Dolor y analgésicos. Algunas consideraciones oportunas. *Medisur* [en línea],2020, (país) vol. 18 (4) [Consulta: 20 de diciembre 2023] ISSN 1727-897X. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2020000400694
8. **CAMINO VALDEZ, Jaime Andres et al.** “Estudio comparativo de la actividad antioxidante del *Vaccinium Meridionale* y *Vaccinium Corymbosum*”. *RECIMUNDO*, [en línea], 2023, (país) vol. 7 (2), págs. 339-347. [Consulta: 20 de diciembre 2023], ISSN 2588073X. Disponible en: [https://doi.org/10.26820/recimundo/7.\(2\).jun.2023.339-347](https://doi.org/10.26820/recimundo/7.(2).jun.2023.339-347)
9. **CARANQUI ALDAZ, Jorge Marcelo et al.** “Fenología reproductiva en base de datos de herbarios de *Vaccinium floribundum* Kunth (Ericaceae), Ecuador”. *Dominio De Las Ciencias*. 2021. [en línea],2021, (Ecuador) vol. 7 (5), págs. 922-936, [Consulta: 17 septiembre 2023], ISSN 2477-8818. Disponible en: <https://doi.org/10.23857/dc.v7i5.2290>
10. **COBA SANTAMARÍA, Pablo et al.** “Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. La Granja”. *Revista de Ciencias de la Vida* [en línea]. 2012, (Ecuador) vol. 16 (2), págs. 5-13. [Consulta: 23 de mayo de 2023]. ISSN: 1390-3799. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476047400002>
11. **CLARAMUNT, Raúl Armando.** “Adaptaciones celulares, Lesiones celulares reversibles e irreversibles”. *Universidad Nacional de Misiones* [en línea], 2011. (país), vol, págs. 1-110 [consulta: 28 diciembre 2023]. Disponible en: https://editorial.unam.edu.ar/images/documentos_digitales/e23_978-950-579-198-9.pdf
12. **CUNALATA LASCANO, Erick Bladimir.** “Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucémica in vitro de extractos de Marco (*Ambrosia arborescens*), Quishuar (*Buddleja incana*), Cedrón (*Aloysia citrodora*) y Capulí (*Prunus serotina*)” [En línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis) *Universidad Técnica de Ambato*, 2023. Págs. - [consulta: 20 septiembre 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/39259>
13. **F.C.Q.F.B. C de I del M.** “DIFERENCIA FARMACOCINÉTICA DICLOFENACO POTÁSICO Vs. DICLOFENACO SÓDICO”. *Bio Scientia* [en línea], 2019. (Bolivia), vol. 2 (3), págs. 72-73 [consulta: 28 diciembre 2023]. ISSN 2664-5742. Disponible en: <https://revistas.usfx.bo/index.php/bs/article/download/200/174/658#:~:text=Diclofenaco%20pot%C3%A1sico%20se%20absorbe%20en,Act%C3%BAa%20por%20tanto%20m%C3%A1s%20I.ento.>

14. **GARCIA, PEDRO.** “INFLAMACIÓN. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Hospital General Universitario Gregorio Marañón*”. [en línea], 2008. vol. 102 (1), págs. 91-159 [consulta: 16 octubre 2023]. Disponible en: <https://rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>.
15. **GARCÍA CULQUI, Jhoselyn Lisset.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos acuoso y etanólico de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) en macrófagos de ratón [En línea] (Trabajo de titulación) (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Quito. 2017. págs. 35-46 [Consultado: 29 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/7455>
16. **GARCÍA SOTO, Marcela Soto.** *Maderas. Ciencia y Tecnología* [En línea] 2016, (Chile), vol. 18, págs. 701-714. [Consultado: 29 de agosto de 2023]. ISSN 0717-3644. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/440549>
17. **GONZÁLEZ PLAZAS, Erika Andrea.** “Revista Cubana de Plantas Medicinales. *Tamizaje fitoquímico preliminar, evaluación de la actividad antioxidante in vitro y toxicidad de seis especies de Erica colombianas*”. [En línea]. 2015, (Colombia), vol. 20 (2), págs. [Citado el: 27 de febrero de 2024.]. ISSN 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000200004.
18. **GUAMÁN POAQUIZA, Erika.J.** “Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la hoja y fruto del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) frente a bacterias patógenas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*)”. [en línea]. Tesis. Tungurahua: Universidad Técnica de Ambato. 2022. [consulta: 16 octubre 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/36567>.
19. **GUERRERO CAZAR, Andrea Estefanía.** “Caracterización de compuestos bioactivos, físicos y químicos del fruto de mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) en la sierra del Ecuador para uso agroindustria”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis). Universidad de las Américas. Quito-Ecuador. 2019. págs. [consulta: 29 diciembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/10702>.
20. **KEB CANUL, Alberth Francisco.** “Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación. Uso de antiinflamatorios en odontología”. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*, [En línea], 2022, (México). vol. 79 (1), págs.

[Consulta: 11 de junio de 2023]. ISSN 0001-0944. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=103817>

21. **LLANGA HUARACA, Danny Hasson.** “Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. en ratones *Mus musculus*”. [En línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. 2022. [consultado el 11 de junio de 2023]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/17341>

22. **LLIVISACA CONTRERAS, Susana et al.** “Mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth): An Underutilized Superplant from the Andes”. *Revista Food Science & Nutrition* [en línea]. 2022, vol 8(5), págs. 934–942 [Consulta: 02 de junio de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050358>

23. **MAINATO COELLO, Karla Mireya.** “Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de un gel a base del extracto hidroalcohólico de *Ageratum conyzoides* L. en ratones *Mus musculus*”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (tesis) 2022. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba-Ecuador. 2022. págs. [Consulta: 11 junio de 2023]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/17333>.

24. **MIRANDA BARROS, Aida Adriana & PALACIOS MONTESDEOCA, Darwin Enrique.** “. Errores de prescripción en recetas médicas de anti-inflamatorios no esteroideos en un centro de atención primaria de Ecuador”. *AVFT – Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* [En línea]. 2021, (Ecuador). vol. 40 (1) [Consulta: 08 de junio de 2023]. ISSN 2610-7988. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/559/55971233011/html/>

25. **MORA, T et al.** “Comportamiento solvatocrómico del colorante natural de mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth)”. *La Granja* [en línea]. 2023, vol. 38 (2), [Consulta: 22 mayo 2024]. ISSN 1390-3799. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/25900>.

26. **MUSUÑ ROJAS, Gilson Alexis & VARELA VILLARROEL, Sebastián Daniel.** “Evaluación de la eficacia antimicrobiana in vitro de cápsulas de extracto fluido de *Vaccinium floribundum kunth* (Mortiños); en infecciones agudas del tracto urinario”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA, INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES. Quito-Ecuador. 2022. [consulta: 26 mayo 2023]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18427>.

27. **OCHOA MEZA, Alba Rocio et al.** “Efecto Inhibitorio de Extractos Hidroalcoholicos de Larrea Tridentata Sobre Saprolegnia Sp”. *Revista Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* [en línea], 2023, vol. 7(5), págs. 2968-2990. [Consultado: 18 de diciembre de 2023]. ISSN 2707-2215. Disponible en: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.7934
28. **ORTIZ MONCAYO, Jéssica Marianela.** “*Obtención de un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa de mortiño (Vaccinium meridionale)*”. [En línea]. (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 2018. págs. 11-15. [consulta: 25 mayo 2023] Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/27310>.
29. **PASTOR CABANILLAS, María Elizabeth.** 2020. *Contenido de flavonoides totales de los frutos de Gaultheria myrsinoides Kunth «macha macha» y Vaccinium floribundum Kunth "mortillo2* [en línea]. S.l.: Universidad San Pedro. [consulta: 21 agosto 2023]. Disponible en: <http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/14093>.
30. **POMA HULLCAPURI, Rosario Isabel.** “*Evaluación in vivo del efecto antiinflamatorio en ratas albinas cepa Holtzman y el efecto analgésico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas y tallos de Desmodium molliculum (Manayupa)*” [en línea]. (Trabajo de titulación) (tesis). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de MEDICINA HUMANA, Programa de Bioquímica y Farmacia. Chimbote-Perú. 2018. [consulta: 5 de abril de 2023]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10038>
31. **RIERA MUÑOZ, Angela Guadalupe & LÓPEZ HERNÁNDEZ, Orestes Dario.** “*Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de la planta sangorache (Amaranthus quitensis)*”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (tesis). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería Bioquímica. Ambato-Ecuador. 2020. [consulta: 4 de enero de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/31405>.
32. **RODRIGUEZ REYES, María Paula.** *Caracterización y variabilidad morfológica del mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) en páramos que circundan la Sabana de Bogotá, Colombia.* [en línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá-Colombia. 2020. [consulta: 15 de diciembre de 2024]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/62288>

33. **ROLDÁN RODRÍGUEZ, S.F.** “*Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) de la comunidad de Quinticusig del cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi*”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis). Escuela Politécnica Nacional. Quito-Ecuador. 2013 [consulta: 2 septiembre 2023]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/5738>.
34. **ROMERO FLOR, Lorena Estefanía et al.** “*Vaccinium spp.: Características cariotípicas y filogenéticas, composición nutricional, condiciones edafoclimáticas, factores bióticos y microorganismos benéficos en la rizosfera*”. *Scientia Agropecuaria*. [en línea] 2021, vol. 12 (1), págs. [Consulta: 22 mayo 2023]. ISSN 2077-9917. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.013>.
35. **ROSAS GOMEZ, de Salazar et al.** Antiinflamatorios no esteroideos. *Enfermedades Reumáticas. Actualización SVR*, [en línea]. 2018. (Guayaquil), vol. 26. [Consulta: 16 de julio de 2023]. Disponible en: <https://svreumatologia.es/wp-content/uploads/2023/01/svr-libros-enfermedades-reumaticas-actualizacion-svr-2008-capitulo-26.pdf>
36. **SANCHEZ ILBAY, J.L.** “*Colonización de hongos micorrizicos en raíces de mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) en los páramos de Ganquis y Cubillín en la provincia de Chimborazo*”. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de recursos naturales, Carrera de agronomía. Riobamba-Ecuador. 2022 [Consulta: 20 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/17820>
37. **TORNERO CRESPO & MONTERO MATAMALA.** “*Revisión del tratamiento farmacológico del dolor secundario a artrosis con paracetamol, antiinflamatorios no esteroideos clásicos (AINE) y los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa tipo 2 (COXIB)*”. *Revista de la Sociedad Española del Dolor* [En línea]. 2020, vol. 28. [Consulta: 11 junio de 2023]. ISSN 1134-8046. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.20986/resed.2021.3864/2020>
38. **VILLALBA HEREDIA, Ericka Wendie.** Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica*, [en línea]. 2014. (Bolivia), vol. 43(1). [Consulta: 20 de agosto de 2023]. ISSN 2304-3768. Disponible en: http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-376820140004004&lng=pt&nrm=iso&tlng=es#:~:text=La%20inflamaci%C3%B3n%20es%20es%20proceso,adem%C3%A1s%20es%20proceso.

39. **VINUEZA, Diego et al.** 2017. "ASSESSMENT OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND CYTOTOXICITY OF FREEZE DRIED HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Bidens andicola* ON ISOLATED NEUTROPHILS". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 10(6), págs. 161. [Consulta: 20 de agosto de 2023]. ISSN 2455-3891. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i6.17574>



ANEXOS

ANEXO A: Recolección de la materia prima *Vaccinium floribundum* Kunth



ANEXO B: Secado de las hojas en la estufa a 40°C



ANEXO C: Maceración de los extractos a diferentes concentraciones



ANEXO D: Filtración de los extractos



ANEXO E: Evaporación del solvente



ANEXO F: Extracto de las hojas del mortiño seco.



ANEXO G: Animales de experimentación



ANEXO H: División de animales de experimentación según su grupo experimental.



ANEXO I: Ambientalización de animales de experimentación



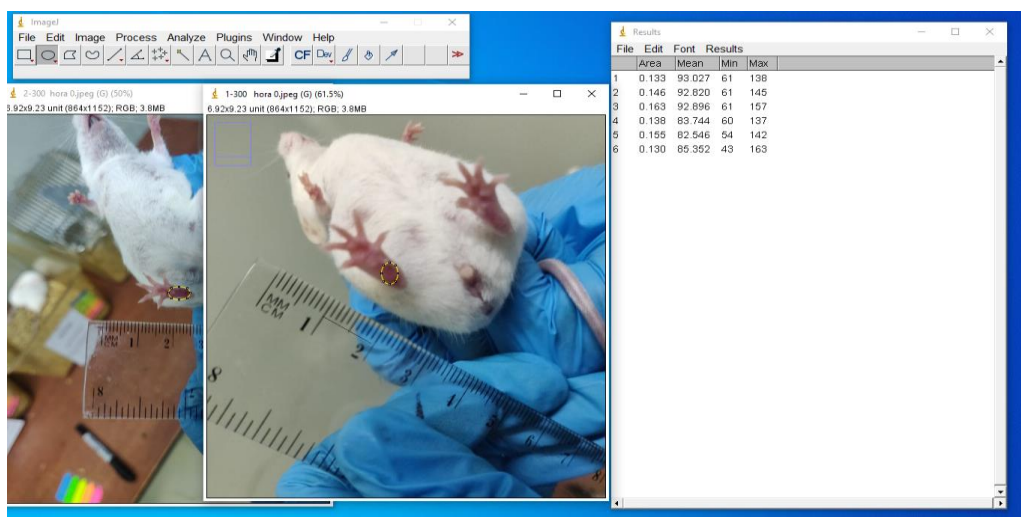
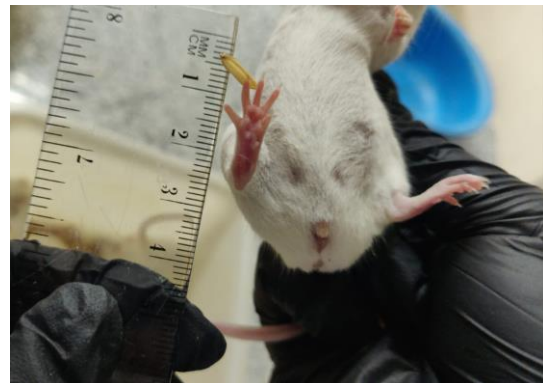
ANEXO J: Etiquetado de los grupos experimentales para su posterior administración



ANEXO K: Administración de los diferentes extractos





ANEXO L: Medición de la patita luego de la administrar carragenina





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 17/06/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Ingrid Vanessa Manobanda Caceres
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica y Farmacia
Título a optar: Bioquímica Farmacéutica
 BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinueza Director del Trabajo de Integración Curricular
 BQF. John Marcos Quispillo Moyota MSc. Asesor del Trabajo de Integración Curricular