



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIINFLAMATORIA DE LA COMBINACIÓN DE TINTURAS A
BASE DE MATICO (*Eupatorium glutinosum*) Y ACÍBAR DE SÁBILA
(*Aloe barbadensis*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: PAULINA ALEXANDRA NÚÑEZ SÁNCHEZ

TUTORA: DRA. SUSANA ABDO LOPEZ

Riobamba – Ecuador

2016

©2016, Paulina Alexandra Núñez Sánchez

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

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

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA DE LA COMBINACIÓN DE TINTURAS A BASE DE MATICO (*Eupatorium glutinosum*) Y ACÍBAR DE SÁBILA (*Aloe barbadensis*)” de responsabilidad de la señorita egresada Paulina Alexandra Núñez Sánchez, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo López

DIRECTORA DE TRABAJO
DE TITULACIÓN

BQF Fausto Contero Bedoya

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

BQF. Diego Vinuesa Tapia

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA

SISBIB ESPOCH

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

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

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

Riobamba, 04 de abril del 2014

PAULINA ALEXANDRA NÚÑEZ SÁNCHEZ

C.I. 180421661-0

DEDICATORIA

A Dios que me ha dado la vida y ha puesto en mí la fuerza y sabiduría para no dejarme caer ante las adversidades.

A mi madre, el pilar de mi vida la persona que desde que me trajo al mundo ha luchado de manera incansable para hacer de mí la mujer que ahora soy.

A mi padre, que a pesar de la distancia me apoyado, y ha brindado su cariño con el fin de que yo cumpla mi meta.

A mi hermano, que desde el día que lo tuve entre mis brazos ha sido mi inspiración para culminar con éxito mis objetivos.

A mi tía Haydee, que con su cariño ha sabido ser un apoyo en mi largo camino por ser su orgullo.

A mi mejor amiga, que durante todos mis años de formación profesional estuvo a mi lado brindándome un apoyo incondicional.

A mi familia, quienes con sus palabras de aliento han ayudado a que siga escalando peldaños.

A mis amigos, mi segunda familia con quienes he vivido momentos increíbles durante este tiempo.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradezco a Dios, por cuidarme durante todo este camino, y darme la fuerza y sabiduría para superar los problemas y obstáculos que se me han presentado a lo largo de mi trayectoria por obtener mi título profesional; por sus bendiciones y por la vida misma que me ha otorgado.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por permitir que dentro de sus aulas mis maestros supieran impartir sus conocimientos, para una excelente formación académica

Al Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, en especial a la Blga. Erika Sánchez, por su apoyo y la gestión brindada para la obtención de los animales de experimentación utilizados en el presente trabajo de investigación.

Agradezco de manera infinita a mi tutora de Tesis Dra. Susana Abdo por confiar en mí y permitirme ser parte de su investigación; al BQF. Diego Vinueza por el apoyo brindado a lo largo del desarrollo de este trabajo porque ha sabido ser un excelente guía profesional

El más fiel agradecimiento a mi madre, una mujer luchadora que con esfuerzo y sin reniegos supo guiarme por el mejor de los caminos, estuvo presente en cada uno de mis logros, siempre apoyándome con paciencia y amor, secando mis lágrimas, y evitando que caiga en el conformismo, haciendo de mí una mujer con valores y responsable; haciéndome ver mis faltas y corrigiéndolas.

A mi tía Haydee, le agradezco cada uno de sus cuidados que me brindó desde pequeña, su compañía, sus ganas de escucharme y su interés por cada una de mis actividades.

A mi mejor amiga por ser la persona que me ha sabido comprender durante tantos años, quien ha soportado a mi lado problemas, malos ratos y ha sabido celebrar conmigo cada uno de mis logros.

A mis amigos que hasta el día de hoy han sido las personas que a pesar de las dificultades y los problemas, siempre están ávidos por tender una mano.

INDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
SUMMARY	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
<i>1. MARCO TEÓRICO.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1. Actividad antioxidante.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.1. Estrés oxidativo</i>	<i>4</i>
<i>1.2.1. Actividad antiinflamatoria</i>	<i>8</i>
<i>1.3. Tinturas.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.2. Planta Medicinal.....</i>	<i>12</i>
<i>1.4. Animal de laboratorio.....</i>	<i>19</i>
CAPÍTULO II	
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
<i>2.1. Lugar de la investigación</i>	<i>21</i>
<i>2.2. Recolección del material vegetal.....</i>	<i>21</i>
<i>2.3. Reactivo Biológico.....</i>	<i>21</i>
<i>2.3.1. Descripción</i>	<i>22</i>
<i>2.3.2. Condiciones</i>	<i>22</i>
<i>2.4. Materiales, equipos y reactivos</i>	<i>22</i>
<i>2.4.1. Material vegetal.....</i>	<i>22</i>
<i>2.4.2. Material Biológico</i>	<i>22</i>
<i>2.4.3. Materiales.....</i>	<i>23</i>
<i>2.4.4. Equipos.....</i>	<i>24</i>
<i>2.4.5. Reactivos</i>	<i>25</i>
<i>2.5. Técnicas y Métodos.....</i>	<i>26</i>
<i>2.5.1. Comprobación taxonómica.....</i>	<i>27</i>
<i>2.5.2. Tratamiento del material vegetal</i>	<i>27</i>
CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
<i>3.1. Control de calidad de tintura</i>	<i>37</i>
<i>3.1.2. Control de calidad organoléptico.....</i>	<i>37</i>
<i>3.1.3. Control de calidad físico químico.....</i>	<i>38</i>

3.1.4.	Control de calidad microbiológico	40
3.1.5.	<i>Análisis cromatográfico de las tinturas de Acíbar de sábila (Aloe barbadensis) y matico (Eupatorium glutinosum)</i>	40
3.1.5.1.	Cromatografía en capa fina de tintura de acíbar de sábila (Aloe barbadensis)	40
3.1.5.2.	Cromatografía de capa fina de Matico (Eupatorium glutinosum).....	42
3.1.6.	<i>Cuantificación de Fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteau</i>	43
3.1.7.	<i>Cuantificación de flavonoides totales</i>	45
3.1.8.	<i>Determinación de la capacidad captadora de radicales libres mediante el método de DPPH*</i>	46
3.1.9.	<i>Actividad antiinflamatoria</i>	47
	CONCLUSIONES	50
	RECOMENDACIONES	51
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1Factores que incrementan el estrés oxidativo.....	5
Figura 2-1Estructura base de un compuesto fenólico.....	7
Figura 3-1Fases de la inflamación.....	10
Figura 4-1Planta de <i>Aloe vera barbadensis</i>	13
Figura 5-1Estructura química de aloína.....	17
Figura 6-1Planta de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>).....	17
Figura 7-1Estructura química de quercetina.....	20
Figura 8-1 Rata (<i>Rattus norvegicus</i>).....	21
Figura 1-2Protocolo de recolección de acíbar de sábila.....	28
Figura 2-2Protocolo de limpieza, desinfección y molienda de <i>Eupatorium glutinosum</i>	28
Figura 3-2Protocolo de preparación de extractos.....	29
Figura 4-2Protocolo de control de calidad de tinturas.....	29
Figura 1-3Cromatografía en capa fina de tintura de acíbar de sábila.....	42
Figura 2-3Cromatografía de capa fina tintura de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>).....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2Definición de los grupos para la evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	35
Tabla 1-3Determinación de características organolépticas de tinturas vegetales.....	38
Tabla 2-3Determinación de densidad relativa de tinturas vegetales.....	39
Tabla 3-3Determinación de pH de tinturas vegetales.	39
Tabla 4-3Determinación del índice de refracción de tinturas vegetales.....	40
Tabla 5-3Determinación de sólidos totales de tinturas vegetales.....	40
Tabla 6-3Análisis microbiológico de tinturas vegetales.....	41
Tabla 7-3Presuntos compuestos identificados en la tintura de acíbar de sábila.....	43
Tabla 8-3Resultados de la cuantificación de fenoles totales.....	45
Tabla 9-3Resultados de la cuantificación de flavonoides.....	46
Tabla 10-3 ...Determinación de la capacidad captadora de radicales libres.....	47
Tabla 11-3 ...Determinación de la eficiencia antiinflamatoria de tinturas vegetales.....	48
Tabla 12-3Homogeneidad de varianzas.....	49
Tabla 13-3Test ANOVA de un factor.....	49

INDICE DE ANEXOS

- ANEXO A** Tinturas de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) y Matico (*Eupatorium glutinosum*)
- ANEXO B** Medición de PH de tinturas
- ANEXO C** Determinación de sólidos totales de tinturas vegetales
- ANEXO D** Control de calidad organoléptico de las tinturas
- ANEXO E** Control de calidad organoléptico de las tinturas
- ANEXO F** Control de calidad microbiológico Aerobios mesófilos
- ANEXO G** Cromatografía Capa Fina
- ANEXO H** Cromatografía tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) lámpara UV
- ANEXO I** Cromatografía capa fina de matico (*Eupatotium glutinosum*)
- ANEXO J** Cromatografía tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*)
- ANEXO K** Soluciones de ácido gálico para curva de calibración de cuantificación de fenoles totales
- ANEXO L** Filtración de tintura de acíbar de sábila
- ANEXO M** Ensayo DPPH tinturas
- ANEXO N** Materiales y soluciones para evaluación de actividad antiinflamatoria en edema plantar inducido por carragenina
- ANEXO O** Cuidado y mantenimiento de animales de experimentación
- ANEXO P** Animal de experimentación rata (*Rattus norvergicus*)
- ANEXO Q** Inducción de solución de carragenina al 1% en suero fisiológico
- ANEXO R** Medición de volumen de la pata posterior derecha inflamada
- ANEXO S** Administración vía oral de tinturas
- ANEXO T** Acta de entrega – recepción de animales de experimentación por parte del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública

RESUMEN

Se evaluó la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de la combinación de tinturas a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*). Las tinturas se elaboraron mediante maceración con alcohol al 40% para para acíbar de sábila y al 38% matico, a partir de estas se prepararon combinaciones en diferentes proporciones: 30:70, 50:50, 70:30 respectivamente. Se realizó el control de calidad físico, químico y microbiológico. Se realizó cromatografía de capa fina (TLC). Con el uso de técnicas espectrofotométricas se cuantificó el contenido de fenoles y flavonoides totales. La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó mediante el ensayo con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH*); se usó como antioxidante estándar ácido gálico. Los resultados fueron expresados como concentración inhibitoria media (CIM). La actividad antiinflamatoria fue evaluada mediante la inducción de edema plantar con carragenina, a 21 ratas (*Rattus norvegicus*), divididas en siete grupos, se administró 300mg/kg de tintura a cada animal, se midió el volumen de la inflamación desde las 0 a 6, los resultados fueron analizados con la herramienta estadística ANNOVA y Tukey. De la cuantificación de fenoles se obtiene que la tintura acíbar de sábila 30% matico 70%, posee la mayor cantidad con 7.417mgGAE/mL; la tintura de matico la concentración más alta de flavonoides con 0.457mg equivalentes de quercetina/mL. La tintura con mayor actividad antioxidante es la tintura de matico con 2085.46 µg/ml que posee la menor CIM. En cuanto a la actividad antiinflamatoria se define a la tintura de matico como la que presenta mayor actividad con un % de eficiencia de 39.386%, valor menor al arrojado por el control positivo. Se concluye que las tinturas madres y las combinaciones no presentan una buena actividad antioxidante ni antiinflamatoria debido a que sus concentraciones son elevadas para producir un efecto. Se recomienda evaluar los extractos etanólicos de las tinturas evaluadas, para mejorar su efecto.

Palabras clave: <ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE>, <ACTIVIDAD AINTINFLAMATORIA>, <MATICO [*Eupatorium glutinosum*] >, < ACÍBAR DE SÁBILA [*Aloe barbadensis*]>, <2,2-difenil-1-picrilhidrazil [DPPH]>, <FITOQUÍMICA>

SUMMARY

Antioxidant and anti-inflammatory capacity of the combination of tinctures based matico (*Eupatorium glutinosum*) and aloe vera acibar (*Aloe barbadensis*) is analyzed. Tinctures are produced by maceration with 40% alcohol aloe vera acibar and 38% matico, from these combinations were prepared in different proportions: 30:70, 50:50, 70:30 respectively. A control of physical, chemical and microbiological quality was performed; the cromografia of thin layer (CTL) was performed. With the use of spectrophotometric techniques and the phenol content it was quantified total flavonoids. Evaluation of the antioxidant capacity test was performed by the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH *); It was used as standard antioxidant gallic acid. The results were expressed as mean inhibitory concentration (MIC). The anti-inflammatory activity was evaluated by inducing plantar edema carrageenan, 21 rats (*Rattus norvegicus*), divided into seven groups, 300 mg / kg of dyeing was administered to each animal, the amount of inflammation was measured from 0 to 6, the results were analyzed with the ANNOVA and Tukey statistical tool. Quantification of phenols is obtained aloe vera acibar tincture 30% matico 70%, has the highest number with 7,417mgGAE/mL; dyeing matico and the highest concentration of flavonoids with 0.457 mg equivalents of quercetin/mL. Tincture more antioxidant activity is the tincture of matico with 2085.46 g / ml which has the lowest CIM. As for the anti-inflammatory activity it is defined dyeing matico as presents a higher activity with 39.386% efficiency, less than thrown by the positive control value. It is concluded that mothers and combinations tinctures not have good antioxidant and anti-inflammatory activity because their concentrations are high to produce an effect. It is recommended to evaluate the ethanol extracts of dyes evaluated, to enhance its effect.

KEYWORDS: <ANTIOXIDANT ACTIVITY>, <ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY>, <MATICO [*Eupatorium glutinosum*]>, <ALOE VERA ACIBAR [*Aloe barbadensis*], < 2,2-difenil-1-picrilhidrazil [DPPH*]>,< PHYTOCHEMICAL>.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos el ser humano ha hecho uso de las plantas medicinales para curar todo tipo de afecciones, y es uno de los recursos más valiosos con los que cuenta el sistema de salud. Aunque las plantas no hayan sido investigadas y valoradas exhaustivamente su uso popular hace de ellas la base para el descubrimiento de nuevos y modernos principios activos que ayuden al mejoramiento de los problemas de salud que atacan a la población (BERMUDEZ, et al., 2005, pp. 453-459).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), apoya el uso de la medicina alternativa o tradicional siempre y cuando, la terapia a utilizarse haya demostrado presentar antecedentes útiles para tratar una determinada patología, y el riesgo que corra el paciente sea mínimo. (OMS, 2004)

La atención primaria de salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional, por práctica cultural o porque no existen otras opciones. En países de mejores recursos su habitantes hacen uso de los remedios naturales debido a su origen son inocuos y menos perjudiciales para la salud, sin tomar en cuenta que al incrementar el uso de terapias alternativas o tradicionales, han aparecido de forma proporcional informes que detalla reacciones adversas producidas por el consumo y uso de este tipo de medicina. (OMS, 2004)

Las propiedades de las plantas medicinales vienen dadas debido a la presencia de diversos metabolitos secundarios como: alcaloides, polifenoles, flavonoides, saponinas, taninos, entre otros, los mismos que al presentar actividad biológica, son usados en síntesis de nuevos fármacos o fitofármacos. (WAZEL-UCAY, 2011, pp. 61-75)

El enfoque al estudio de productos naturales, se basa en la aplicación terapéutica en fitofármacos, es una de las opciones que el país tiene para contribuir al cambio de la matriz productiva, y ayudar al buen vivir de la población ecuatoriana debido a que con la generación de propios medicamentos, disminuiría la importación de medicina extranjera, generando menos fuga de divisas a nivel nacional.

Dentro de las investigaciones más sobresalientes se toma como tema principal la búsqueda de nuevas soluciones a la problemática de la infinidad de enfermedades producidas por el estrés oxidativo producido a causas ambientales, al consumo de contaminantes o inclusive a consecuencia de nuestro propio organismo, el mismo que genera una producción excesiva de

radicales libres, que tiene la capacidad de dañar al organismo dando lugar a enfermedades catastróficas como el cáncer, diabetes; aterosclerosis, artritis, demencia, entre otros; para contrarrestar el efecto de los radicales es muy conocido que una dieta balanceada con un elevado consumo de frutas y verduras, las mismas que disminuyen la incidencia crónica degenerativa del organismo. (CASTAÑEDA & IBÁÑEZ, 2008, pp. 56-72)

Además de este tipo de enfermedades es muy común en nuestra sociedad, presentar padecimientos inflamatorios, siendo estos aquellos originados por el sistema inmunológico de un organismo, debido al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica, la misma que implica un gasto enorme de energía metabólica, las mismas que en ocasiones suelen producir enfermedades de tipo degenerativas como artritis, arterioesclerosis o inclusive cáncer; enfermedades que anteriormente fueron mencionadas al ser causadas a causa de estrés oxidativo. (BARRENO, 2008, pp. 91-159)

Los AINEs (Anti Inflamatorios no esteroidales), se encuentran dentro del grupo de medicamentos más prescritos a nivel mundial, estos medicamentos en dosis únicas o como terapia a corto plazo proveen adecuada analgesia en la reducción del dolor leve a moderado, pero de la misma forma su abuso puede provocar trastornos gastrointestinales, de los cuales se puede derivar problemas de úlcera péptica o sangrado intestinal severo, debido a que su mecanismo de acción interfiere en la producción y liberación de prostaglandinas disminuyendo así el efecto protector de la mucosa gastrointestinal de estas sustancias. (HALL, et al., 2001, pp. 4-8)

Por este motivo es necesario que se hagan investigaciones en las cuales se establezcan qué tipo de nuevos compuestos sintetizados por las plantas, pueden provocar un efecto similar al ejercido por compuestos de síntesis química pero con efectos adversos reducidos, por este motivo el presente trabajo de titulación, se enfoca a la evaluación de tintura a base de acíbar de sábila (*Aloe vera barbadensis*) y Matico (*Eupatorium glutinosum*), las mismas que mediante estudios anteriormente realizados poseen una actividad cicatrizante muy eficaz, y al tener relación con la disminución de inflamación es necesario de estudiar su efecto como antiinflamatorio y antioxidante.

Desde hace tiempo atrás se han venido realizando estudios de la flora ecuatoriana atribuyendo a una infinidad de especies diversas propiedades; estudios realizados anteriormente dentro de la Escuela de Bioquímica y Farmacia han obtenido resultados previos del uso de plantas medicinales como parte de estudios encargados de evaluar la cicatrización por castración en lechones dónde

si obtuvo que las tinturas de acíbar de sábila cicatrizaron las heridas en un total de 12 días, la tintura de matico en 13 días y su combinación dio como resultado la cicatrización en tiempo de 10 días, que al realizar la comparación con el cicatrizante de uso habitual eterol, reportaron una diferencia promedio de 12 días menos en terminar de cicatrizar las heridas. (Basantes, 2009)

Al incidir la superficie de las hojas de las distintas especies de Aloe, se obtiene un jugo viscoso de color amarillo y sabor amargo llamado Acíbar, contiene del 40% al 80% de resina, y hasta un 20% de aloína, glucósido antraquinónico, que aplicado sobre la piel resulta ser uno de los mejores remedios para los cortes, heridas, llagas, úlceras, quemaduras, picaduras de insectos, dermatitis, acné juvenil, etc. (INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA, 1994)

El Matico (*Eupatorium glutinosum*) es una planta medicinal, cuyos beneficios para el ser humano son muy conocidos ya que ha sido usado tradicionalmente para tratar afecciones respiratorias, contusiones, luxaciones, conjuntivitis, antidiabético, sedante, antiinflamatorio, cicatrizante, entre otras propiedades atribuidas a la gran cantidad de metabolitos secundarios que presenta en su composición química. (PEREIRA, 2012)

Para poder realizar ciertas investigaciones es necesario realizar una investigación *in vivo* de la actividad antiinflamatoria de las tinturas de Matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe vera barbadensis*), mediante edema inducido por carragenina, en modelos biológicos, el trabajo con animales de experimentación, debe incluir valores éticos y morales brindando al animal bienestar, es decir que exista un buen manejo de su entorno. (CONCEPCIÓN, et al., 2007)

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Actividad antioxidante

1.1.1. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre sustancias o factores pro oxidantes y los mecanismos antioxidante encargados de eliminar dichas especies químicas ya sea por déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de especies reactivas de oxígeno, esta acción genera como consecuencia alteraciones entre la estructura y función de cualquier órgano, y se asocia a este problema como un mecanismo generador de daño celular. (VENEREO, 2002, pp. 123-133)

El término especies reactivas hace referencia a dos tipos de moléculas formadas directamente como resultado del metabolismo celular y se encuentran representados por las especies reactivas de oxígeno (ROS) y por las especies reactivas de nitrógeno (RNS), cuyo origen deriva de procesos fisiológicos comunes o patológicos, además de estas especies se pueden derivar especies reactivas de cloro y bromo pero las ROS y RNS son principalmente los dos grupos implicados en la biología de Óxido reducción. (CORRALES, 2012, pp. 132-150)

El estrés oxidativo al ser severo puede causar muerte celular, o a su vez una oxidación moderada puede desencadenar en apoptosis, mientras al ser esta intensa puede causar necrosis celular. Para mantener el equilibrio oxidativo es necesaria la participación de enzimas que mantiene el estado reducido a través de un contante aporte de energía metabólica evitando de esta forma que se dé una sobre producción de peróxidos y radicales libres que causen daño a los componentes celulares incluyendo proteínas, lípidos y el ADN. (FINA, 2009)

Los problemas más habituales considerados por estrés oxidativo se encuentran relacionados con diversas enfermedades como ciertos tipos de cáncer, enfermedad cardiovascular, obesidad, diabetes, enfermedad de Alzheimer, enfermedades oculares, lupus entre otras; de todas estas enfermedades el efecto pudo ser contrarrestado mediante un equilibrio entre el estrés oxidativo y los niveles de antioxidantes consumidos. (UNIVERSITY OF MICHIGAN, 2012)

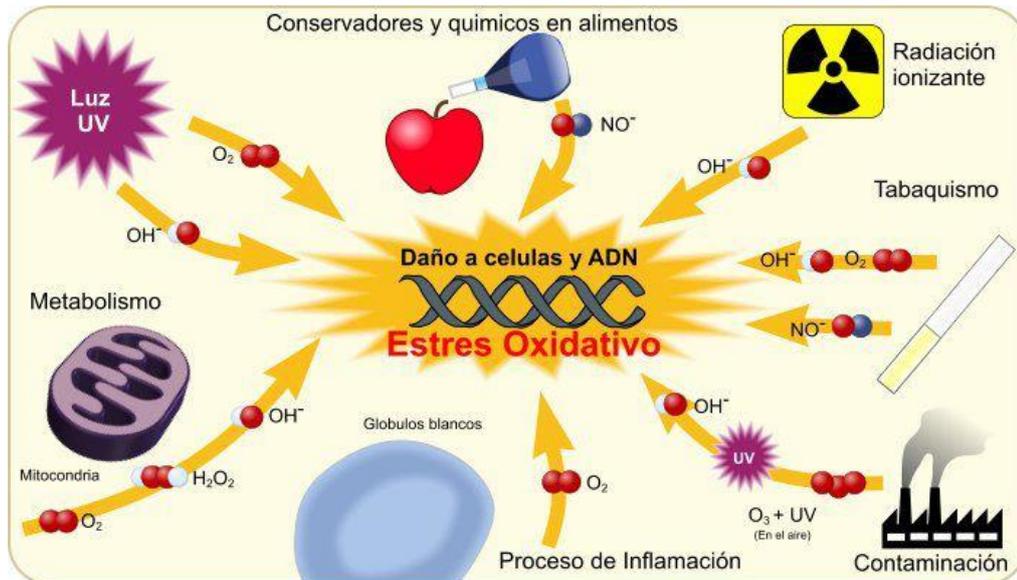


Figura 1-1 Factores que incrementan el estrés oxidativo

Fuente: Instituto Valenciano de Ozono Terapia, 2016

1.1.1.1. Radicales libres

Los radicales libres son aquellas especies químicas, cargados o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dotando a esta molécula de características inestables y altamente reactivas, y posee una vida efímera ya que tiene una vida media de microsegundos. Tiene una capacidad elevada de reaccionar con todo lo que se encuentra a su alrededor provocando daño en moléculas, membranas celulares y tejido (SUWALSKY & AVELLO, 2006, pp. 161-172) s.

Los radicales libres son producidos por diferentes mecanismos dentro de los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos; reacciones de oxidación que producen daño tisular, al interactuar con los principales biomoléculas del organismo. (VENEREO, 2002, pp. 123-133)

Estas especies reactivas de oxígeno no son completamente dañinas para el organismo ya que cumplen también con una función fisiológica como la fagocitosis, favorecen la síntesis de: colágeno, prostaglandinas; activan las enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis. (VENEREO, 2002, pp. 123-133)

Además las especies reactivas de nitrógeno son descritas como las responsables de proceso de contracción del músculo liso en las células que componen el endotelio de los vasos sanguíneos y actualmente han sido involucradas en los procesos de regulación del metabolismo de las neuronas. (GUITIERREZ, 2006, pp. 69-73)

1.1.1.1.1. Origen de los radicales libres.

El principal origen de los radicales libres viene dado por el metabolismo celular, el mismo que es llevado a cabo dentro de la mitocondria, por las diversas reacciones redox, realizadas por las enzimas como la NADPH oxidasa, lipooxigenasas, ciclooxigenasa y peroxidasas, dicho esto el metabolismo celular genera de manera endógena radicales libres; dónde no existe un problema grave cuando existe equilibrio entre compuestos antioxidantes que neutralicen su efecto. (OLIVARES & CABRERA, 2010, pp. 10-15)

El problema radica cuando existen la presencia de radicales libres de tipo exógeno, los mismos que son producidos por el organismo al momento de consumir alimentos con alto contenido de grasa, alimentos procesados como lo son los embutidos, el consumo de fritos o asados y con conservantes, el consumo excesivo de alcohol, la exposición a diversos químicos o contaminantes del medio ambiente dentro de los que se puede mencionar el smog, el humo de tabaco, agua clorada, entre otros. También son causantes de la producción de radicales libres las radiaciones ionizantes (rayos X, luz ultravioleta), hiperoxia, exceso de ejercicio, isquemia, e inclusive durante la digestión de los alimento, y la exposición prolongada a altas temperaturas. (REQUENA, 2007)

1.1.1.1.2. Efectos nocivos de los radicales libres

Por su alta reactividad química, son especies que atacan principalmente a moléculas que en su estructura contengan dobles enlaces carbono-carbono o anillos de carbono; por ello las moléculas de aminoácidos, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos son el principal blanco al cual los radicales libres pueden atacar, alterando fuertemente su función o la estructura de la célula. (GUITIERREZ, 2006)

1.1.1.2. Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como un agente reductor o donador de electrones, es decir contrarrestan la acción de los radicales libres, evitando cualquier tipo de daño a nivel celular. En el organismo durante el metabolismo normal del cuerpo produce sustancias antioxidantes propias como el glutatión, ubiquinol, y ácido úrico. Otros tipos de antioxidantes se encuentran la dieta. (ALOMAR, 2013)

1,1,1,2,1,Antioxidantes naturales

En condiciones fisiológicas, el sistema de defensa antioxidante humano que incluye, la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión (GSH) y otros, permite la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en exceso. Sin embargo, nuestros sistemas de defensa endógenos están incompletos sin compuestos antioxidantes exógenos tales como la vitamina C, la vitamina E, carotenoides y polifenoles, que juegan un papel esencial en muchos mecanismos antioxidantes en organismos vivos. (BOUAYED J., 2010, pp. 223-227)

1.1.1.3. Compuestos fenólicos

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal y aproximadamente en la naturaleza comprenden alrededor de 8000 compuestos, los mismos que se encuentran en todas las partes de la planta y en dependencia del ciclo vegetativo su concentración aumenta o disminuye. Son compuestos que intervienen en la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, alelopatía y la defensa en factores adversos del ambiente. (PALADINO, 2002)

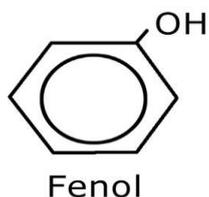


Figura 2-1 Estructura base de un compuesto fenólico

Fuente: AEFA, 2015

1.1.1.3.1. Actividad biológica de compuestos fenólicos

Dentro de las actividades que poseen los compuestos fenólicos se pueden mencionar acciones antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, anti úlcera, antivirales, antialérgicas, y vasodilatadoras. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento. Al ser altamente abundantes en las frutas y verduras, hace que una dieta balanceada con un alto consumo de estas sea un apoyo para prevenir enfermedades. (PALADINO, 2002)

1.1.1.4. Espectrofotometría

La espectrofotometría es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de la luz por parte de un compuesto y su concentración. En los fotocolorímetros, fotómetros y espectrofotómetros miden la cantidad de radiación absorbida por una sustancia, considerándolas a estas como filtros de retención de radiación, por ello, en los fotocolorímetros y fotómetros sencillos aún se utilizan filtros de comparación. (MOREANO, 2011)

1.1.1.4.1. Espectrofotometría UV- visible

Es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución, eso se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para realizar estas mediciones se suele ajustar la longitud de onda a la cual la sustancia problema presente pico (DIAZ, et al., 2008, pp. 1-8).

1.2.1. Actividad antiinflamatoria

1.2.1.1. Inflamación

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. (Barreno, 2008, pp. 91-159)

La respuesta inflamatoria es benéfica si es breve y se localiza en el sitio del daño; por lo contrario, se toma patogénica, si tiene una extensión o duración excesivas.

La inflamación tiene como objetivos localizar el proceso inflamatorio, remover el agente causal, y reparar el área dañada. La inflamación posee las siguientes fases:

- a) **Quimiotaxis.** Se refiere a la migración de células a lo largo de un gradiente de concentración de una molécula atrayente, de esta forma las células llegan y se acumulan las células en el sitio dañado, las primeras células en llegar a la zona afectada son las primeras en llegar y ser activadas y así promover la inflamación.

- b) **Aumento del diámetro vascular.** Inducido por histamina, bradicinina, eicosanoides, tripasas, sustancias secretadas por mastocitos locales, basófilos y las células endoteliales activadas, aumentan el flujo de sangre hacia el área inflamada generando fiebre y enrojecimiento de la zona.

- c) **Aumento de la permeabilidad vascular.** Para el paso de líquido y proteínas se requiere dilatación capilar, la distensión de los tejidos y la acción de bradicinina originan dolor.
- d) **Adherencia y rodamiento celular.** Se da la unión entre neutrófilos y células selectivas, los leucocitos migran sobre las células endoteliales de las vénulas postcapilares, y lo hacen a una velocidad de 40 um por segundo. Se induce la producción de sustancias que eleven la expresión de los ligandos como el TNF
- e) **Estimulación de la vía extrínseca de la coagulación.** Esta etapa se desarrolla simultáneamente a las etapas anteriores, terminando esta fase con la formación de fibrina y un estado pro-coagulante, para impedir que los gérmenes de la zona afectada se desplacen y llegue a la circulación sanguínea.
- f) **Transmigración.** Se denomina así a la migración de los leucocitos hacia el foco infeccioso o lesionado. Esto se da a través de su paso por las uniones intercelulares y son guiados por señales quimiotratantes. (Robledo, 2008, pp. 220-222)

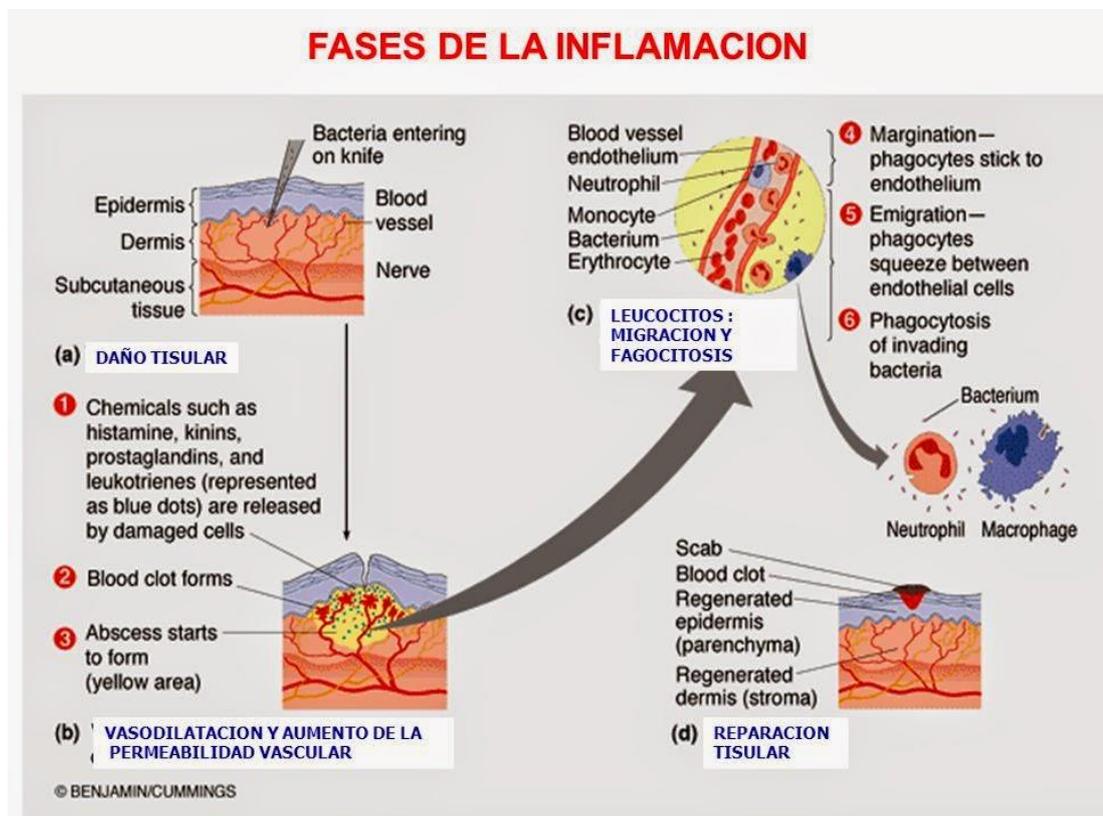


Figura 3-1 Fases de la inflamación

1.2.1.2. Clasificación de la inflamación

La inflamación principalmente puede clasificarse en:

Agudas. Su periodo de duración es corto e inicia de manera inmediata, se produce una vasodilatación de la zona afectada, aumenta la permeabilidad capilar e infiltración leucocitaria. (Castro, 2011)

Crónica. Se considera a una inflamación crónica cuando esta persiste por semanas y meses, donde se puede producir daño tisular, inflamación activa y una intensidad de reparación alta.

1.2.1.3. Antiinflamatorios

Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa que es el paso previo de la vía de síntesis de los prostanoïdes, son usados como antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos, pero no todas las sustancias de este grupo cumplen con todas estas tres características con la misma fuerza. Dentro de este grupo se pueden mencionar a los antiinflamatorios más conocidos como lo son el ácido acetyl salicílico conocido como aspirina, ibuprofeno, indometacina, diclofenaco, piroxicam entre otros, estas sustancias además posee capacidad anti agregante por ende pueden disminuir la capacidad de las plaquetas para unirse y formar trombos, aplicados en tratamientos de dosis únicas o terapias a corto plazo son analgésicos con producción de una reducción del dolor leve a moderado. (PEREZ, 2012)

1.2.1.3.1. Mecanismo de acción

Inhiben la actividad de la enzima ciclooxigenasa (COX), dando lugar a la disminución de la formación de prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico; al disminuir la producción de prostaglandinas se da lugar a una pérdida del dolor, una reducción de la inflamación y de la fiebre, dado que estas sustancias son las responsables de los efectos terapéuticos y adversos de estos compuesto. (HALL, et al., 2001, pp. 4-8)

1.2.1.3.2. Usos de los AINES

Los AINES son ampliamente utilizados en el tratamiento de enfermedades reumáticas, en la disminución del dolor, como tratamiento de artritis gotosa aguda para disminuir la incidencia o severidad en los ataques agudos de gota, en la inflamación no reumática como la tendinitis, periartrosis; son usados en la dismenorrea, en la prevención de la migraña asociada a la menstruación; en la profilaxis y tratamiento del dolor de cabeza, síndrome de Bartter, pericarditis; además poseen beneficios adicionales en los desórdenes cardiovasculares, cáncer colorectal y enfermedad de Alzheimer (HALL, et al., 2001, pp. 4-8) r.

1.2.1.3.3.Efectos adversos de los AINES

Los AINES son las sustancias altamente utilizadas y toleradas, pero sin embargo su uso indiscriminado y su abuso pueden provocar efectos adversos potenciales, los principales efectos adversos que presentan este grupo de sustancias está asociado a problemas gastrointestinales, renales y cardiovasculares, y de forma general estos efectos se encuentran asociados a las dosis de ingesta.

El mecanismo de acción por el cual actúan es el mismo que ocasiona los problemas gastrointestinales, ya que al ser inhibida la ciclooxigenasa disminuye la síntesis de mucosa gástrica, plaquetas, riñones y pulmones, provocando daño en el funcionamiento correcto de estos órganos y células anteriormente mencionados. (Leyva Islas, et al., 2007, pp. 41-45)

1.3. Tinturas

Las tinturas o extractos son sustancias líquidas que contienen las porciones medicamentosas, separadas de las plantas por medio de líquidos que las disuelven, en este caso, el agua y el alcohol de caña de 96%; y tiene como ventaja ser de fácil preparación, tener las partes curativas de las plantas y su tiempo de vida útil al mantenerse en lugares frescos, secos y en envases herméticos. (MARTINEZ, 1988)

Las tinturas tienen concentraciones de planta entre el 10% y el 50% a diferencia de los extractos cuya concentración es al 100%. Las tinturas de interés medicinal son las tinturas alcohólicas, estas son obtenidas realizando una maceración del material vegetal seco y troceado, dejándolo el tiempo necesario para que los principios activos pasen de la planta al solvente. (ÁVILA, 2002)

1.3.1. Preparación de tinturas

Según la farmacopea Alemana recomienda la preparación de tinturas madres a partir de planta fresca, pero permite el uso de planta seca cuando no sea posible; además que en dependencia de la farmacopea q se vaya a utilizar, se deben cumplir las siguientes etapas: Selección material vegetal, escoger el método de extracción (maceración/percolación) y el solvente a usarse; exprimir y filtrar el material vegetal al finalizar la extracción; y, control de calidad de la tintura. (CORADO, 2005)

1.3.2. Planta Medicinal

Se define como plata medicinal a todas aquellas que en alguno de sus órganos contienen principios activos, los mismos que en una dosis suficiente son capaces de generar un efecto terapéutico en el hombre y los animales en general. (Pérez, 2008)

1.3.2.1. Aloe Vera (Aloe barbadensis)



Figura 4-1 Planta de *Aloe vera Barbadensis*

Fuente: Campa, 1994

1.3.2.1.1.Descripción

Es una planta utilizada por sus diversas propiedades en todo el mundo, posee hojas elongadas, carnosas muy ricas en agua debido a que por su habitad debe resguardar este líquido cerrando herméticamente sus estomas durante las horas de sol es decir se vuelve impermeable; además de ellos el borde de sus hojas es espinoso dentado como forma de protección, puede alcanzar una altura de 50 a 70cm, puede adaptarse a vivir en zonas con muy poca disponibilidad de agua es decir es xerófilas, son plantas que pertenecen a la familia de las liliáceas y existen unas 350 variedades o especies reconocidas de este género (Ferraro, 2009) o.

Su forma de reproducción necesariamente debe darse por polinización, además de utilizar también la posibilidad de reproducirse mediante estolones, los mismos que nacen de la base del tallo. (Stevens, 2006)

Las hojas son la parte más utilizada de la planta ya que poseen tres capas donde la primera capa o capa interna posee un gel transparente con un contenido de 99% de agua y el 1% lo comprenden glucomananos, aminoácidos lípidos, esteroides, y vitaminas; la capa intermedia conocida como látex es la savia de color amarillo y sabor amargo por su alto contenido de antraquinonas y glucósidos; y, una capa externa que tiene a ser dura debido a que le presta protección a la planta y dónde se da la síntesis de carbohidratos y proteínas (Ferraro, 2009) .

1.3.2.1.2.Clasificación científica

REINO:	Plantae
DIVISIÓN:	Magnoliophyta
CLASE:	Liliopsida
ORDEN:	Liliales
FAMILIA:	Liliaceas
GÉNERO:	Aloe
ESPECIE:	<i>Aloe barbadensis</i>
NOMBRE COMÚN:	<i>Aloe vera</i>

(Vega, 2005)

1.3.2.1.3. Propiedades generales del Aloe vera

Es innumerable la cantidad de beneficios que el aloe vera puede entregar al hacer uso como una planta medicinal. Esta planta posee un interés medicinal muy llamativo desde hace millones de años donde a partir de sus hojas se pueden obtener tres tipos de productos comerciales con fines terapéuticos

- a) **Aloe:** esta es una sustancia excretada por las células de aloína, es un exudado seco, proveniente de la zona vascular de las hojas de sábila, posee efecto catártico.
- b) **Gel:** es una sustancia que se deriva de la fracción mucilaginosa del parénquima de las hojas, de características transparente e insípido posee abundante agua y polisacáridos, el mismo que tiene acción cicatrizante de heridas, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antiviral, antitumoral, anti ulcerosa, hipoglucemiante e hipolipemiante. (LÓPEZ, 2004, pp. 96-100)
- c) **Aceite:** es la fracción lipídica de las hojas, suele extraerse mediante la utilización de solventes orgánicos, usado como transportador de pigmentos y agente sedante. (Vega, 2005).

Además de las propiedades mencionadas anteriormente la sábila ha demostrado tener una capacidad de regulación biológica al igual que inmunoestimulante, acelera la regeneración celular postoperatoria, usado como analgésico, antiinflamatorio, antiviral, queratolítico, e incluso médicos americanos dan a conocer que al ser usada en tratamientos de cáncer y sida ha dado buenos resultados (Schweizer, 1994).

1.3.2.1.4. Gel de áloe vera

Este es un líquido mucilaginoso que se obtiene a partir de la pulpa de las hojas, es pegajoso, transparente e insípido, que en su mayoría contiene agua y abundantes polisacáridos mucilaginosos (60%) que le dan a las plantas la capacidad de retener agua; por ello el gel posee un 99.4% de agua.

La actividad antiinflamatoria que esta posee se ha definido a diversas investigaciones que se han realizado a lo largo del tiempo haciendo uso de animales de experimentación como lo son ratos y ratas de laboratorio e induciendo a estos agentes irritantes que causen inflamación, para de esta forma identificar los componentes químicos del gel de áloe vera que provocan esta acción en el organismo, siendo así las cromonas y esteroides los inhibidores de las síntesis de prostaglandinas y causantes de reducir la migración e infiltración de los leucocitos y glicoproteínas que bloquean la unión del antígeno al receptor superficial de los mastocitos y reducen la liberación de histamina y la síntesis y secreción de leucotrienos, además al poseer compuestos fenólicos y estos tener una

acción antioxidante e inhibidora de las metaloproteasas leucocitarias contribuyen a moderar la reacción inflamatoria al reducir el efecto oxidativo y agresivo que ejercerían estos mediadores sobre la matriz extracelular del tejido inflamado. (Casanovas & Guinea López, 2001, pp. 245-256)

1.3.2.1.5. Acíbar

El acíbar es uno de los elementos simples medicinales conocido antiguamente, es obtenido a partir de la incisión de las hojas frescas de la planta, el mismo que se encuentra constituido por masas sólidas desecadas, es un jugo de color marrón oscuro, amargo y un olor característico desagradable.

Su composición química varía su contenido en una resina del 40 al 80% la misma que se encuentra compuesta por un éster del ácido paracumárico y en el alcohol resínico llamado Aloeresinatanol, su contenido de aloína es de aproximadamente del 20% y al hidrolizarse los pentósidos que posee se tienen derivados de las antraquinona; s utilizado principalmente en forma de extractos, polvo seco, tintura madre, cápsulas o comprimidos y en productos cosméticos. (INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA, 1994)

Su uso interno se basa en que la flora intestinal transforma los compuestos hidroxiantracénicos en áloe emodín antrona, la misma que actúa sobre las terminaciones nerviosas de la membrana intestinal, modificando la motilidad intestinal y estimulando el peristaltismo, además estimula la secreción de mucosa y de líquido hacia la luz intestinal, y a la par inhibe la reabsorción de agua y electrolitos en el intestino grueso. Su uso debe ser racional, dado que es un laxante irritante y puede ocasionar efectos emetocatórtico acompañado de diarreas sanguinolentas y otros síntomas que radican en el uso crónico de esta sustancia. Además puede ser genotóxico y muy peligroso en el primer trimestre del embarazo, y se le ha descrito un posible efecto oxicídico. (LÓPEZ, 2004)

Externamente el acíbar posee propiedades antisépticas bactericidas, antiinflamatorias, hidratantes y regeneradoras, al ser aplicado sobre la piel logra la curación de cortes, heridas, llagas, úlceras, quemaduras, picaduras de insectos entre otras. (Cruz, 2008)

Además funciona como catalizador de células vivas, ya que influye en las reacciones metabólicas de los tejidos proteicos gracias a la acción de sus enzimas. Lo que permite disminuir la energía de activación de tal manera que la reacción se lleva a cabo en menor tiempo, así mismo es usado en la preparación de bebidas refrescantes y saludables, por su contenido de proteínas,

aminoácidos, minerales, enzimas y otros complementos que le proporcionan características aperitivas, tónicas y reconstituyentes. (INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA, 1994)

1.3.2.1.6. Aloína

Principal componente del acíbar de la planta de Aloe, secretada a manera de modo de defensa por poseer un olor y sabor desagradables, sustancia de color amarillento, controla la transpiración de la planta cuando la temperatura es elevada.

Químicamente hablando forma parte de los glucósidos antraquinónicos, por ende posee propiedades laxantes, es capaz de producir alergia (Dominguez Fernandez, et al., 2012) s.

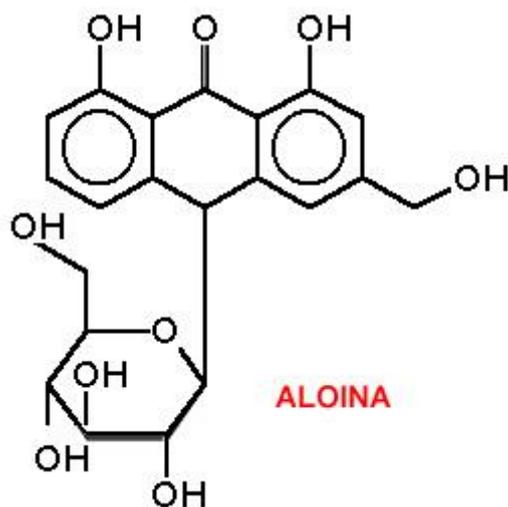


Figura 5-1 Estructura química de aloína

Fuente: IQB, 2010

1.3.2.2 Matico (*Eupatorium glutinosum*)

Es una especie de planta de flores, originaria de la región interandina del Ecuador a una altura aproximada de 3000 a 3700 metros sobre el nivel del mar, muy conocida como matico, en diferentes parte de Sur América, se refieren al matico con diversos nombres como por ejemplo: en Perú es conocida o se la relaciona con la especie *Piper aduncum*, mientras que en Chile y Argentina Se utiliza mucho el nombre de *Buddleja globosa*.



Figura 6-1 Planta de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Fuente: Castro, 2011

1.3.2.2.1.Descripción

Es un arbusto perennes de 1 a 3 m de altura, sus ramas son grises, posee hojas de un color verde brillante, las mismas que poseen de 7-10 cm de largo y un ancho de 2.5 a 3.5 cm; sus borde son dentados. Sus flores son tubulares, posee con espigas solitarias, de tonalidad fucsia y sus frutos son de color negro que en su interior posee una semilla pequeña.

Naturalmente son plantas originarias de bosques húmedos, subtropicales, o matorrales de gran altitud. (Crespo & Mideros, 1995, pp. 194-201)

1.3.2.2.2.Clasificación Científica

REINO:	Plantae
FILO:	Tracheophyta
DIVISIÓN:	Magnoliopsida
ORDEN:	Asterales
FAMILIA. :	Asteraceae
GÉNERO:	Eupatorium
ESPECIE:	Glutinosum
NOMBRE CIENTÍFICO:	<i>Eupatorium glutinosum</i>
SINONOMIAS:	<i>Aristiguieta glutinosa</i>

1.3.2.2.3. Propiedades

Dentro de las propiedades que se pueden mencionar del matico se encuentran las propiedades antiinflamatorias uretrales y vaginales leves; beber un zumo de esta planta evita la formación de abscesos internos de origen traumático, se usa además para tratar desórdenes del sistema digestivo, desórdenes de la piel además posee actividades antimicóticas y antibacterianas, dentro del territorio ecuatoriano es muy usado en las Provincias de Tungurahua, Azuay y Cañar.

Se le atribuye diversas propiedades dentro de las que destacan la cicatrizante en el tratamiento de hemorragias cuando son usadas sus hojas en decocción, en lavados antisépticos sobre heridas y en infusión para evacuar cálculos biliares, aliviar o curar enfermedades del tracto respiratorio, dolencias gastrointestinales como diarreas agudas o crónicas, y tópicamente en infusión de las hojas para hacer gárgaras; además es utilizado como emoliente y protector de la piel. Se han analizado de la misma forma la actividad de sus extractos dando buenos resultados en lo que refiere a la actividad anti protozoaria (Ubillos, 2011)

La actividad gastro protectora se le ha sido atribuida dado que el porcentaje de inhibición de índices de ulceración provocados por inducción de úlceras gástricas según el modelo biológico De Robert y colaboradores fue mayor a los resultados arrojados frente a la actividad de la Ranitidina (Chiriboga, 2008).

1.3.2.2.4. Características fitoquímicas

Los principales componentes que posee el matico son las cumarinas, flavonoides, esteroides, alcaloides, triterpenos, saponinas y fenoles; además contiene taninos en una concentración de 5.7%, y este último le proporciona actividad cicatrizante. (Buestan Orellana & Guaraca Merchan, 2013, pp. 27-29)

Los triterpenos que posee con responsables además de propiedades anti fúngicas, anti bacteriales y antivirales. (EL-SEEDI, et al., 2002, pp. 293-296)

1.3.2.2.5. Quercetina

Es un flavonoide que se encuentra distribuido en todo el reino vegetal, abunda en manzanas, cebollas, té, y vino tinto. La quercetina tiene una amplia capacidad antioxidante es decir es un compuesto que tiene capta radicales libre y protege a los tejidos del daño celular que este pueda

causar; como una característica de las varias que posee es la de inhibir la actividad de la fosfolipasa A2 en neutrófilos y la de la ciclooxigenasa y lipooxigenasa en plaquetas indemnes.

La actividad antioxidante que posee la quercetina tiene la capacidad de reducir además el riesgo de muerte por dolencias e injurias cardiacas, además posee una actividad antiinflamatoria relacionada en parte con enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico, se puede mencionar también que esta sustancia ha mostrado la capacidad de prevenir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad al eliminar radicales libres y quelantes de iones metálicos de transición previniendo así también enfermedades como el cáncer. (MERCK S.A., 2000)

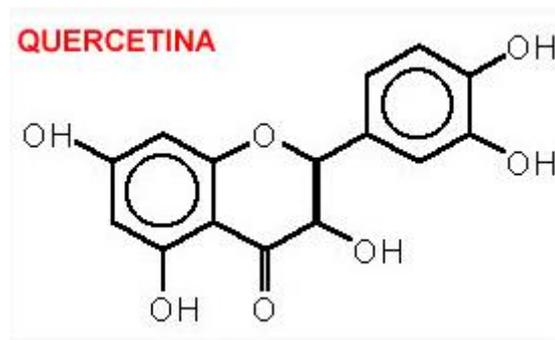


Figura 7-1 Estructura química de quercetina

Fuente: MERCK, 2012

1.4. Animal de laboratorio

Un animal de laboratorio, es aquel que ha sido engendrado y producido bajo condiciones controladas, es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. (PAREDES, et al., 2008)

El ambiente dentro del cual se deben manejar los animales a ser utilizados en un experimento debe brindar un bienestar del modelo animal, para ello se debe considerar factores como:

- La especie, raza o cepa de animales y sus características individuales como el sexo, edad, tamaño, conducta y salud.
- La habilidad de los animales para integrar grupos con sus semejantes.
- El diseño y construcción del alojamiento.
- La disponibilidad y adecuación de elementos enriquecedores del medio ambiente.
- La intensidad de la manipulación animal y el grado de alteración, cambio o patología que puedan causar los procedimientos. (CARDOZO, et al., 2007)

Ante la utilización de los animales de experimentación se ha dado prioridad a los temas relacionados con el bienestar animal, al tratarse de una materia de gran complejidad, tanto por los problemas éticos como por la respuesta social que genera.

1.4.1. Rata (*Rattus norvegicus*)

Denominada también rata común, parda, de agua o de Noruega, se distribuye en zonas templadas, subtropicales y tropicales de todos los continentes. Su peso se encuentra entre 230 – 550 gramos, su pelaje es corto, áspero, y tieso; sus orejas son relativamente pequeñas redondeadas, peludas y pegadas a la cabeza; sus ojos son pequeños y el hocico es chato. (Priotto & Steinmann, 2013)



Figura 8-1 Rata (*Rattus norvegicus*)

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de la investigación

La presente investigación será llevada a cabo en las instalaciones de los laboratorios de Microbiología, Análisis Químico Instrumental, laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Recolección del material vegetal

El material vegetal fue recolectado en el Cantón Pallatanga, Provincia de Chimborazo, a una altitud de 2377 msnm, ubicada dentro de las coordenadas geográficas siguientes:

- Latitud: 2° 3' 50.232" S
- Longitud: 78° 52' 59.862" W

2.3. Reactivo Biológico

En la evaluación de la actividad antiinflamatoria se utilizaron con reactivos Biológicos ratas (*Rattus norvegicus*).

2.3.1. Descripción

PESO:	196 – 220 gramos
EDAD:	4- 5 meses
SEXO:	Femenino
LUGAR DE NACIMIENTO:	Bioterio del Instituto de Investigación en Salud Pública (INSPI) - Guayaquil

2.3.2. Condiciones

Humedad relativa:	55% \pm 10
Temperatura:	22°C \pm 2
Período de luz:	12 horas de luz 12 horas de oscuridad
Cama:	Viruta con cambio cada 48 horas
Alimento:	Pellets (balanceado para roedores) 22.3g diarios
Agua:	Ad libidum

2.4. Materiales, equipos y reactivos

2.4.1. Material vegetal

MATERIAL VEGETAL	CANTIDAD
Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	100 g (hojas secas)
Sábila (<i>Aloe barbadensis</i>)	100 g (acíbar de sábila)

2.4.2. Material Biológico

MATERIAL BIOLÓGICO	CANTIDAD
Ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	21

2.4.3. Materiales

ELABORACIÓN DE TINTURAS

- Frascos ámbar 500 mL
- Probeta 500 mL
- Probeta 100mL
- Kitasato
- Embudo bushner

CONTROL DE CALIDAD DE TINTURAS

- Tubos de ensayo
- Picnómetros
- Balones de aforo de 10mL
- Vasos de 50 mL
- Pipetas Pasteur
- Capsulas de porcelana
- Pipetas de 5mL
- Pizeta

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)

- Cuba cromatográfico
- Aspersor
- Capilares
- Vasos de 50mL
- Pipetas de 10mL
- Pipetas de 5mL

CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO

- Placas Petrifilm Coliformes totales
- Placas Petrifilm Aerobios mesofilos
- Micro pipeta automática 100uL

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES Y FLAVONOIDES Y ENSAYO DE DPPH*

- Balones aforados de 10mL
- Balones aforados de 50mL
- Balones aforados 100mL
- Balones aforados de 250mL
- Pesa muestra
- Tubos de vidrio
- Vasos 50mL
- Gradilla
- Pipetas de 5mL
- Pipetas 1mL
- Pipeta 10mL
- Espátula
- Paquete de papel aluminio
- Micro pipeta automática de 100uL
- Micro pipeta automática de 1000uL
- Puntas azules 1000uL
- Puntas amarillas 100uL

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

- Balones de aforo 10mL
- Pesa muestra
- Jeringuillas 1mL
- Jeringuillas 3mL
- Jeringuillas 10mL
- Pie de rey
- Gradilla
- Cánula
- Torundas

2.4.4. Equipos

ELABORACIÓN DE TINTURAS

- Molino
- Ultrasonido
- Bomba de succión

CONTROL DE CALIDAD DE TINTURAS

- pH-metro
- Refractómetro
- Estufa
- Balanza analítica
- Cámara UV
- Reverbero

CROMATOGRAFÍA

- Cámara UV
- Reverbero

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES TOTALES, ENSAYO DE DPPH* (ESPECTRO UV)

- Espectrofotómetro
- Balanza analítica
- Cronómetro
- Refrigerador

2.4.5. Reactivos

ELABORACIÓN DE TINTURAS

- Etanol 40%
- Etanol 38%

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)

- Placas de Silica Gel
- Acetato de etilo
- Ácido acético glacial
- Ácido fórmico
- Agua destilada
- Estándar de Quercetina
- Sulfato de cerio
- Metanol
- Hidróxido de potasio 2M

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES Y FLAVONOIDES Y ENSAYO DE DPPH*

- Solución patrón de ácido gálico
- Metanol 98%
- Agua destilada
- Nitrito de sodio al 5%
- Tricloruro de aluminio 10%
- Hidróxido de sodio 1M
- Solución de quercetina
- Carbonato de sodio al 20%
- Reactivo de Folin-Ciocalteu 20%
- Solución de DPPH* 60uM

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

- Solución de diclofenaco
- Solución de carragenina al 1%
- Suero fisiológico
- Alcohol antiséptico

2.5. Técnicas y Métodos

2.5.1. Comprobación taxonómica

La comprobación taxonómica del material vegetal se realizó en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), identificando en el lugar que los ejemplares son los especificados para la investigación.

2.5.2. Tratamiento del material vegetal

2.5.2.1. Hoja de *Aloe vera barbadensis*

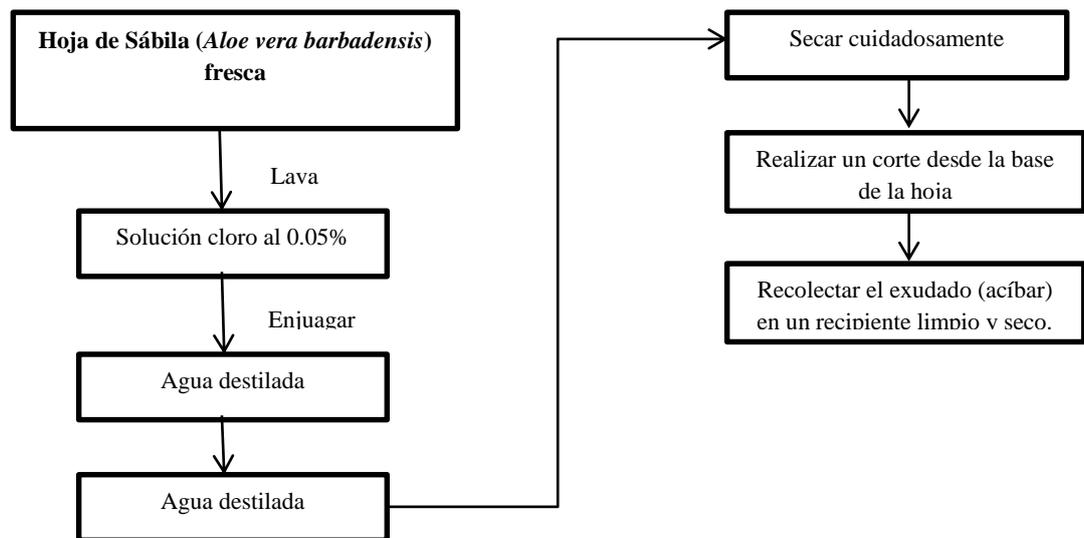


Figura 1- 2 Protocolo de recolección de acíbar de sábila

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

2.5.2.2. *Eupatorium glutinosum*

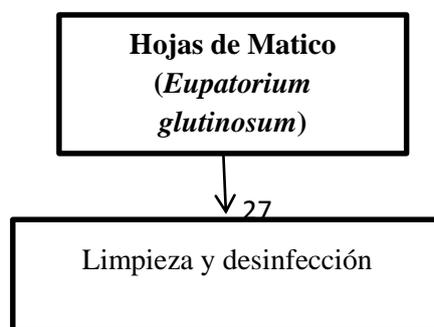


Figura 2 – 2 Protocolo de limpieza, desinfección y molienda de *Eupatorium glutinosum*

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

2.5.2.3. Preparación de extractos

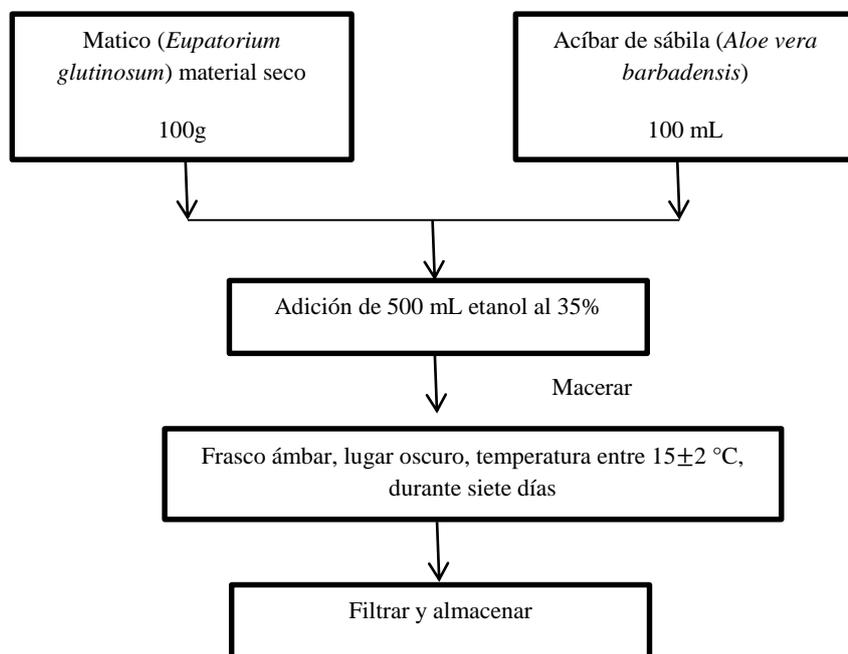


Figura 3-2 Protocolo de preparación de extractos

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

2.5.2.4. Control de calidad de extractos

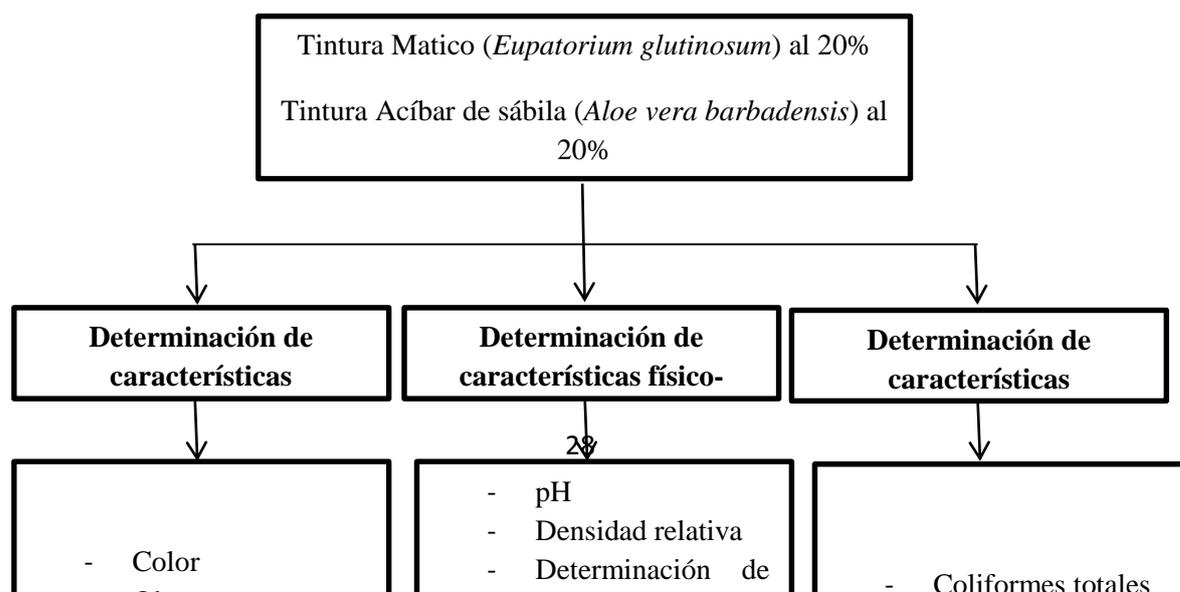


Figura 4-2 Protocolo de control de calidad de tinturas

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

2.5.2.4.1. Determinación de los requisitos organolépticos.

Determinación de olor: Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se percibió el olor y se determinó si corresponde con la característica del producto.

Determinación del color: Se tomó un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

2.5.2.4.2. Determinación de la densidad relativa.

Se determinó mediante gravimetría, según lo establece las Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas, 1992. Se pesó el picnómetro con capacidad de 10mL vacío y seco, posteriormente se llenó con la tintura a analizar, la determinación de densidad relativa debe mantenerse a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min y ajustar la tintura al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso y secar exteriormente el picnómetro.

Se pesó cuidadosamente el picnómetro con la tintura y se repitió la operación con el agua destilada a 2°C , después de limpiar el picnómetro. El ensayo se llevó a cabo por triplicado. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

La densidad relativa a 25°C se calculó con la siguiente fórmula:

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

Dónde:

M₁: peso del picnómetro con la tintura (g)

M₂: peso del picnómetro con el agua (g)

M: peso del picnómetro vacío (g).

2.5.2.4.3. Determinación del índice de refracción.

Esta determinación se efectuó en un refractómetro de Abbé. Se colocó sobre el prisma de medición una gota de agua destilada con una varilla de vidrio, se ajustó el equipo, seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota de la tintura sobre el prisma de medición, se cerró el termoprisma y se enfocó la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se procedió de la misma forma que con el agua. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

2.5.2.4.4. Determinación del pH de extractos y tinturas

La determinación se realizó en un pH-metro 211 microprocessor pH Meter para ello se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH, posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra, introduciendo el electrodo en la tintura a analizar. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

2.5.2.4.4. Determinación de los sólidos totales.

La determinación se realizó por métodos gravimétricos, cuyo fundamento es la medición de la variación de masa, a causa de la pérdida de sustancias volátiles por acción del calor. (Normas Ramales para Drogas crudas y extractos y tinturas, 1992)

Se tomaron 5,0mL de la tintura y se la colocó en una cápsula previamente tarada a 105 °C, se evaporó sobre baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco. Se pasó entonces hacia

una estufa y se dejó hasta peso constante con una duración de la determinación de aproximadamente 3 horas. Se retiró la cápsula de la estufa y se colocó en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente.

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

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

Dónde:

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

P= masa de la cápsula vacía (g)

V= volumen de la tintura de ensayo.

100= factor matemático para el cálculo.

2.5.2.5. Análisis microbiológico

Recuento de Aerobios mesófilos en 3M Placas Petrifilm™

Se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Posteriormente se levantó la lámina semitransparente superior, con la micropipeta perpendicular a la placa Petrifilm, se colocó 1 ml de la tintura a analizar en el centro de la película cuadriculada inferior, se liberó la película superior dejando que caiga sobre la dilución, con el lado rugoso hacia abajo se colocó el esparcidor sobre la película superior cubriendo totalmente la muestra. Luego se presionó suavemente el esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. Luego se esperó que se solidifique el gel en aproximadamente 1 minuto. Finalmente se incubó las placas a 35°C durante 48 horas. (Universidad Autónoma de México)

2.5.3. Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

Para la cuantificación de fenoles totales presentes en las tinturas al 20%, se realiza la preparación de una curva de calibración con un estándar de ácido gálico a concentraciones desde los 20ppm hasta los 100ppm.

Para realizar el ensayo es necesario seguir cuidadosamente el siguiente protocolo:

1. En un tubo de ensayo limpio y seco colocar 2mL de muestra analizar, la misma que debe ser diluida en metanol si fuere necesario.
2. Añadir 0.5mL de reactivo Folin-Ciocalteu al 20%
3. Después de 5 minutos añadir 0.5mL de solución de Carbonato de Sodio Saturado al 20%.
4. De forma inmediata añadir 5mL de agua destilada.
5. Dejar reposar el tubo de ensayo durante el lapso de una hora a temperatura ambiente y fuera del alcance de la luz.
6. Transcurrido el tiempo con ayuda del espectrofotómetro se realizaran las lecturas de las muestras a una longitud de onda de 765nm.
7. Las absorbancias son utilizadas para el trazado de la curva de calibración sobre la cual se extrapolaran los valores de las muestras para encontrar la cantidad de fenoles totales dentro de la misma.

Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por mililitro de tintura (García Ortiz, et al., 2004, pp. 1-5).

2.5.4. Cuantificación de flavonoides.

La cuantificación de flavonoides inicia su técnica elaborando una curva de calibración de con una solución de estándar de quercetina, preparada a diferentes concentraciones:

El tratamiento necesario a realizar a cada una de las concentraciones para la curva de calibración y a las muestras es el siguiente:

1. A un tubo de vidrio limpio y seco añadir 1mL de soluciones estándar o muestras.
2. Añadir 4mL de agua destilada
3. De manera consecutiva tomar un volumen de 0.3mL de NaNO₂ al 5%, dejar reposar por 5 minutos.
4. Transcurrido el tiempo establecido añadir 0.3mL de AlCl₃ al 10%, y dejar reposar nuevamente durante un lapso de 6min.
5. Colocar a la mezcla 2mL de NaOH 1M.

6. Mantenerla durante 5min a temperatura ambiente y protegido de la luz (ambiente oscuro)
7. Realizar las lecturas de las absorbancias de cada una de las mezclas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510nm,
8. Trazar curva de calibración
9. Extrapolar valores de las muestras a la curva principal.

Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de quercetina por mililitro de tintura.

2.5.5. Capacidad captadora de radicales libres (Ensayo de DPPH*)

*2.5.5.1. Preparación solución de DPPH**

1. En un pesa muestra con la ayuda de una espátula de acero inoxidable pesar 5.9mg de DPPH
2. Trasvasar el DPPH a un balón aforado de 250mL y enrasar con metanol, obteniendo así una solución de 60uM de concentración (BRAND-WILLIAMS & BERSET, 1995, pp. 25-30).
3. Medir su absorbancia a una longitud de onda de 515nm.
4. Al obtener absorbancias superior a 0.560, es necesario ajustar la misma con la adición de metanol.

2.5.5.2. Preparación de la muestra y cuantificación de la capacidad captadora de radicales libres

Para el análisis de cuantificación de la capacidad captadora de radicales libres, es necesario que a partir de las tinturas madres analizar se realicen diluciones de menor concentración para elaborar una curva en la que se indique la cinética de la reacción; para ello las muestras deben seguir el siguiente tratamiento:

1. Tomar 100uL de la muestra
2. Adicionar 3.9mL de la solución DPPH
3. Dejar en reposo durante 30 min fuera del alcance de la luz.
4. Leer las absorbancias en el espectrofotómetro una longitud de onda de 515nm
5. Elaborar la curva respectiva para cada muestra, calcular el porcentaje de inhibición y estadísticamente con ayuda del programa B LeSq (by Bobo Software), se calcula la concentración media inhibitoria de cada muestra.

2.5.6. Evaluación de la capacidad antiinflamatoria mediante ensayo de edema plantar en ratas (*Rattus norvegicus*)

Para evaluar la actividad antiinflamatoria de tinturas se utilizó el método de prueba de edema plantar inducido por carragenina según Winter.

El método se fundamenta en la inyección de carragenina en el aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata, proceso por el cual se genera una reacción inflamatoria, el mismo que debe disminuir con la aplicación de sustancias antiinflamatorias.

Al utilizar este ensayo se logra evaluar la actividad antiinflamatoria de las muestras más no el mecanismo de acción por el cual estas actúan.

Se usaron para este experimento 21 ratas las mismas que fueron elegidas al azar y se formaron 7 grupos cada uno de tres animales, realizando de esta forma el ensayo por triplicado, siguiendo el siguiente protocolo:

a) ETAPA DE AMBIENTACIÓN

Se mantuvo a los animales en grupos de tres, a las condiciones ambientales establecidas anteriormente:

Humedad relativa:	55% +/- 10
Temperatura:	22°C +/- 2°C
Período de luz:	12 horas de luz / 12 horas de oscuridad
Cama:	Viruta con cambio cada 48 horas
Alimento:	Pellets (balanceado para roedores) 22.3g diarios
Agua:	Ad libidum
Periodo de tiempo:	14 días

Los animales son ambientados de manera que se acostumbren al investigador, y a la técnica que se va a realizar mediante manipulación y adaptación.

b) ETAPA DE EXPERIMENTACIÓN

1. Los animales deben permanecer 12 horas en ayuno, para una mejor absorción de las tinturas.
2. Pasadas las doce horas se administra la dosis de tintura indicada para cada animal, dosificación realizada por kilogramo de peso del animal, administrados de la siguiente manera:

Tabla 1-2 Definición de los grupos para la evaluación de la actividad antiinflamatoria

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO	DOSIS	CANTIDAD DE ANIMALES
G1	Control positivo	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Diclofenaco 50mh	300mg/kg (0.3mL)	3
G2	Control negativo	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico	300mg/kg (0.3mL)	3
G3	Primer grupo de investigación	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Tintura de Acíbar al 100%	300mg/kg (0.3mL)	3
G4	Segundo grupo de investigación	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Tintura de Matico 20 %	300mg/kg (0.3mL)	3
G5	Tercer grupo de investigación	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Tintura de Acíbar 70% y Tintura de matico 30%	300mg/kg (0.3mL)	3
G6	Cuarto grupo de investigación	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Tintura de Acíbar 50% y Tintura de matico 50%	300mg/kg (0.3mL)	3
G7	Quinto grupo de investigación	Sol. Carragenina al 1% en suero fisiológico + Tintura de Acíbar 30% y Tintura de Matico 70%	300mg/kg (0.3mL)	3

Elaborado por: Paulina Núñez 2016

- Una hora después se indujo la inflamación con la administración subcutánea de 0.1mL de carragenina en la aponeurosis plantar de la pata posterior derecha de la rata, desinfectando antes de la inyección con una torunda de alcohol la zona.

4. Inmediatamente medir el volumen de la pata.
5. Realizar mediciones del volumen de la pata a la 1, 2, 3, 4, 5, 6 horas después de inducida la inflamación.
6. Calcular el volumen de la pata inflamada.

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

Dónde:

d = diámetro de la pata

h = largo de la pata

7. Eficacia antiinflamatoria (EA)

$$EA = \left[\frac{\frac{B}{B_0} - \frac{V}{V_0}}{\frac{B}{B_0}} \right] \times 100$$

Dónde:

B/B₀ = Es el incremento del blanco debido a la inflamación, con respecto al volumen inicial (B₀) del mismo.

V/V₀ = Es el incremento estandarizado de volumen inflamado, pero tratado con un agente antiinflamatorio.

EA= Es la disminución porcentual del volumen causado por la inflamación, para cada momento de observación experimental.

CAPÍTULO III

3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Control de calidad de tintura

3.1.2 Control de calidad organoléptico

Se procedió analizar el aspecto, color, olor y sabor de cada una de las tinturas obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 1-3 Determinación de características organolépticas de tinturas vegetales

PARÁMETRO	RESULTADOS				
	T 1 Acíbar	T 2 Matico	T 3 70AS:30M	T 4 50AS:50M	T 5 30AS:70M
Olor	Característico de acíbar	Dulce	Característico de acíbar	Característico de acíbar	Característico de acíbar
Color	Rojizo	Verde oscuro	Rojizo	Verde oscuro	Rojizo
Sabor	Amargo astringente	Amargo astringente	Amargo astringente	Amargo astringente	Amargo astringente

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Se compararon los resultados del análisis organoléptico de las tinturas con investigaciones realizadas por María Vasconez en el año 2015 en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, estudio basado en la comparación del efecto cicatrizante de las tinturas de Matico y acíbar de sábila, donde se confirma que las tinturas base de esta investigación poseen

organolépticamente las mismas características con los datos cotejados de la investigación mencionada. (VÁSCONEZ, 2015, pp. 38-51)

3.1.3. Control de calidad físico químico

3.1.3.1. Determinación de Densidad relativa

Se realizó la determinación de densidad relativa de cada una de las tinturas, y los resultados se muestran en la tabla 2-3:

Tabla 2-3 Determinación de densidad relativa de tinturas vegetales.

No. MEDICIÓN	DENSIDAD RELATIVA				
	Tintura de Acíbar de sábila 20%	Tintura de Matico 20%	Tintura acíbar de sábila 70% Matico 30%	Tintura acíbar de sábila 50% Matico 50%	Tintura acíbar de sábila 30% Matico 70%
1	0,968	0,964	0,960	0,964	0,952
2	0,969	0,955	0,955	0,962	0,964
3	0,968	0,959	0,957	0,963	0,958
Media	0,968	0,959	0,957	0,963	0,958
Desviación Estándar	0,000	0,004	0,002	0,001	0,006

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

3.1.3.2. Determinación de pH

Se determinó el pH de cada una de las tinturas parte de la investigación, este parámetro fue medido por triplicado, mostrándose los datos en la tabla 3-3:

Tabla 3 – 3. Determinación de ph de tinturas vegetales.

No. MEDICIÓN	pH				
	Tintura de Acíbar de sábila 20%	Tintura de Matico 20%	Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%
1	5,18	5,70	5,44	5,54	5,61

2	5,2	5,71	5,46	5,54	5,62
3	5,18	5,71	5,45	5,55	5,62
Media	5,19	5,71	5,45	5,54	5,62
Desviación. Estándar	0,012	0,006	0,010	0,006	0,006

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

3.1.3.3. Determinación de Índice de refracción

El índice de refracción fue medido mediante un Refractómetro de ABBE, los datos se muestran en la tabla 4-3:

Tabla 4-3 Determinación del índice de refracción de tinturas vegetales.

No. MEDICIÓN	Índice de refracción				
	Tintura de Acíbar de sábila 20%	Tintura de Matico 20%	Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%
1	1,355	1,358	1,356	1,355	1,356
2	1,355	1,357	1,355	1,355	1,356
3	1,354	1,358	1,354	1,356	1,356
Media	1,355	1,358	1,355	1,355	1,356
Desv. Estándar	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

3.1.3.4. Determinación de sólidos totales

La tabla 5-3 muestra los resultados de sólidos totales obtenidos de cada tintura en la evaluación de este parámetro:

Tabla 5-3 Determinación de sólidos totales de tinturas vegetales.

No. MEDICIÓN	SÓLIDOS TOTALES				
	Tintura de Acíbar de sábila 20%	Tintura de Matico 20%	Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%
1	3,178	3,36	2,92	3,154	3,17
2	3,100	3,184	2,766	3,382	3,18
3	3,139	3,272	2,843	3,268	3,175

Media	3,139	3,272	2,843	3,268	3,175
Desv. Estándar	0,039	0,088	0,077	0,114	0,005

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

3.1.4. Control de calidad microbiológico

-

El análisis microbiológico mediante el método PETRIFILM arrojó los siguientes resultados:

Tabla 6-3 Análisis microbiológico de tinturas vegetales.

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES (UFC/mL)	AEROBIOS MESOFILOS (UFC/mL)
Tintura de Acíbar de sábila 20%	Ausencia	Ausencia
Tintura de Matico 20%	Ausencia	Ausencia
Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	Ausencia	Ausencia
Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	Ausencia	Ausencia
Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%	Ausencia	Ausencia

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

La ausencia de microorganismos, se apunta al alto contenido alcohólico que poseen los preparados y al alto control en cuanto a la desinfección de la materia prima.

3.1.5. Análisis cromatográfico de las tinturas de Acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) y matico (*Eupatorium glutinosum*)

3.1.5.1. Cromatografía en capa fina de tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*)

Se utilizó como fase móvil: Acetato de etilo: Metanol: Agua en proporciones (100:13.5:10); y como revelador Hidróxido de potasio 2M.

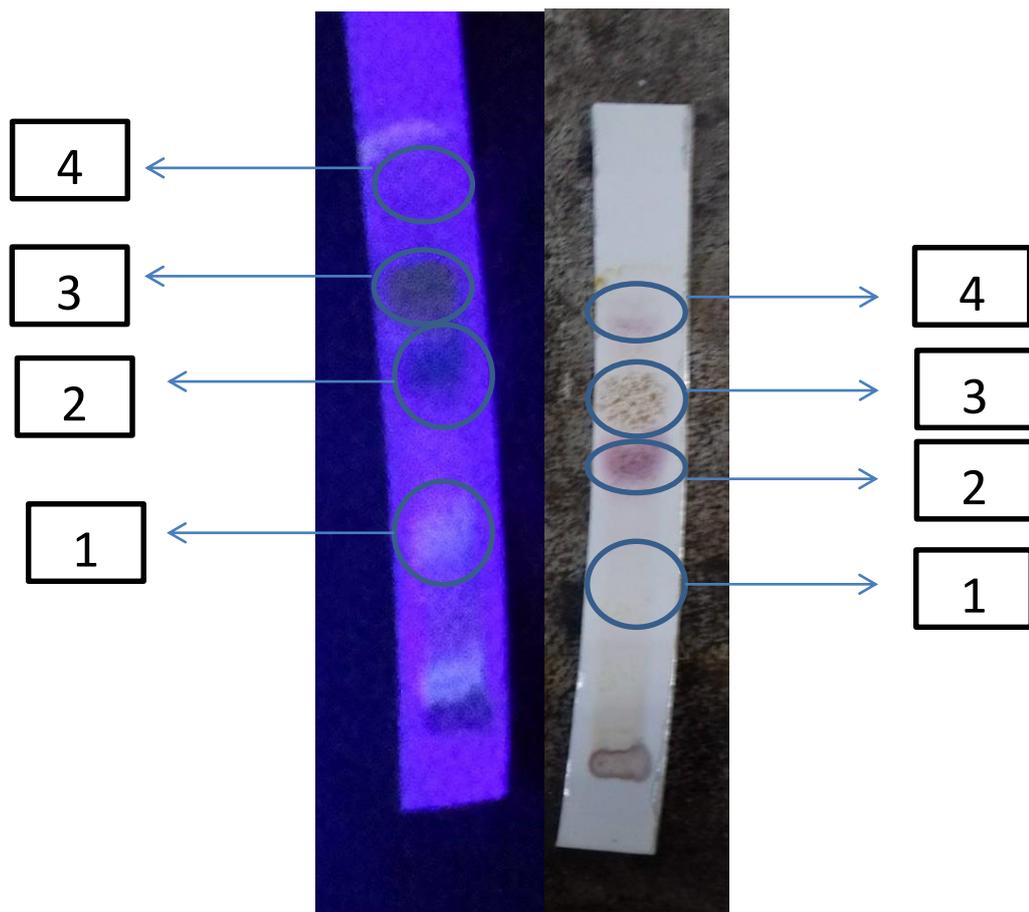


Figura 1-3 Cromatografía en capa fina de tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*)

Realizado por: Paulina Núñez

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

Al realizar el análisis cromatográfico de la tintura de *Aloe barbadensis*, se pudo observar que como resultado en la placa de sílica gel se obtuvieron cuatro manchas que van entre colores

amarillentos y violáceos, colores característicos de derivados antraquinónicos, compuestos pertenecientes a esta especie.

Tabla 7-3 Presuntos compuestos identificados en la tintura de acíbar de sábila

Compuesto	Rf obtenido	Rf referencia	Posible compuesto identificado
1	0,28	0,25	Aloesina A
2	0,41	0,45	Aloína
3	0,73	0,75	Aloesina B
4	0,93	0,96	Aloemodina

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Los Rf obtenidos son comparados con bibliografía, al no poseer estándares contra quienes hacerlo, y de esta forma se presume según la tabla 7-3, la existencia Aloesin A, Aloina, Aloesina B, y Aloemodina. (WAGNER & BLANDT, 1996)

3.1.5.2. Cromatografía de capa fina de Matico (*Eupatorium glutinosum*)

El sistema de solventes con el que se obtuvo mejor resolución fue Acetato de etilo: Ácido fórmico: Ácido acético glacial: Agua en proporciones (100:11:11:26), y la placa fue revelada con sulfato de cerio.

Al analizar la cromatografía obtenida de la tintura de *Eupatorium glutinosum*, se obtiene como resultado únicamente una mancha de color amarillento la misma que se encuentra en el extremo superior de la placa cerca del límite de corrido del solvente, realizando el cálculo se obtiene que posee un Rf de 0.68, valor similar al recorrido de referencia citado por Wagner el mismo que va de 0.60-0.70. Se podría asumir la existencia de derivados de quercetina en la muestra, pero al ser una aglicona no se encuentran en extractos no hidrolizados quercetina como tal, por eso se predice

que los compuestos existentes en la tintura de *Eupatorium glutinosum*, posee glucósidos de quercetina.

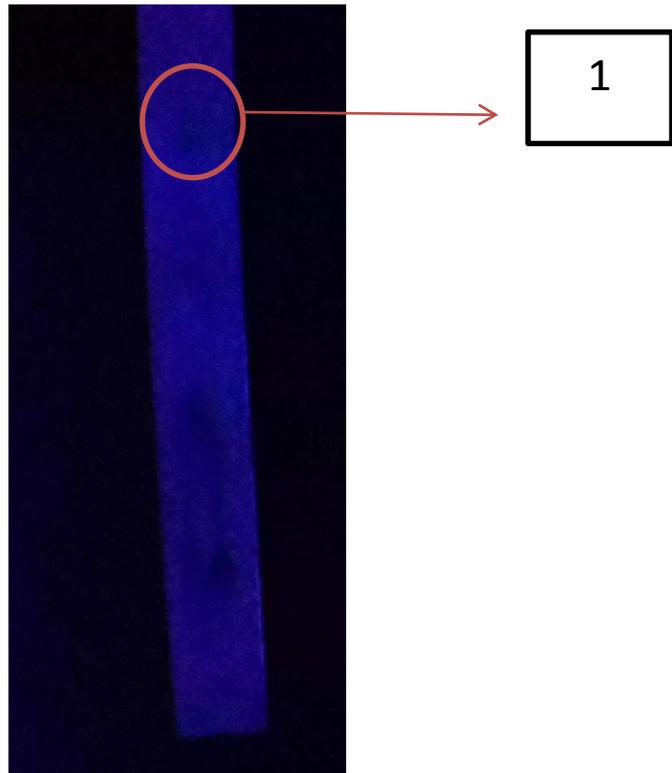


Figura 2-3 Cromatografía de capa fina tintura de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Realizado por: Paulina Núñez, 2016

3.1.6. *Cuantificación de Fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*

Se cuantificó los fenoles totales de cada una de las tinturas, para lo cual se elaboró una curva de calibración del estándar de ácido gálico cuya ecuación de la recta es $y = 0.0008x + 0.0957$, cuyo coeficiente de correlación es de $R^2 = 0.9966$.

Para la cuantificación fueron realizadas diluciones de las tinturas, con el fin de que las absorbancias obtenidas se encuentren dentro de la curva de calibración. Los resultados son

reportados en la Tabla 5-3y el reporte expresa los datos en mg equivalentes de ácido gálico por

TINTURA	mg GAE/ mL de tintura	PORCENTAJE
Tintura de Acíbar de sábila 20%	1.975±0.0625	0.198±0.006
Tintura de Matico 20%	2.488±0.031	0,249±0.003
Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	4,225±0.063	0,423±0.006
Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	2,581±0.063	0,258±0.006
Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%	7.417±0.625	0,742±0.063

mL de tintura y en porcentaje.

Tabla 8-3 Resultados de la cuantificación de fenoles totales.

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

El contenido de fenoles reportado anteriormente permite observar que todos los vales obtenidos dan un contenido bajo de compuestos fenólicos en las tinturas de acíbar de sábila y matico; pero a su vez muestra que al momento de hacer la mezcla de tinturas estas mejoran su contenido de compuestos fenólicos, es decir se puede comprobar que a excepción de la tintura que posee porcentajes iguales de tinturas madre, las otras dos mezclas, mejoran considerablemente su contenido en compuestos fenólicos debido a que las cantidades presentes en cada una de las tinturas se suman.

Al observar estos datos se puede decir que la tintura de matico al poseer un contenido de compuestos fenólicos mayor potencia a que su combinación con la tintura acíbar de sábila mejore el contenido de estos, ya que la tintura que obtuvo un porcentaje mayor de compuestos fenólicos fue la mezcla de 70% tintura de matico y 30% acíbar de sábila con un contenido de 7.417±0.625 mg GAE/ mL de tintura.

No existe contenido bibliográfico que permita aseverar los datos obtenidos anteriormente, ya que son muy poco estudiadas las tinturas como tal, en su gran mayoría se encuentran datos bibliográficos de extractos de las plantas, además con respecto al matico (*Eupatorium glutinosum*), al ser una especie nativa propia de los páramos ecuatorianos existe muy poca información.

3.1.7. Cuantificación de flavonoides totales.

Se cuantificó flavonoides de cada una de las tinturas, para lo cual se elaboró una curva de calibración del estándar de quercetina cuya ecuación de la recta es $y = 0.0011x + 0.0002$, cuyo

TINTURA	mg EQUIVALENTES DE QUERCETINA/ mL DE TINTURA	PORCENTAJE
Tintura de Acíbar de sábila 20%	0.169 ±0.002	0.017±0.000
Tintura de Matico 20%	0.502±0.005	0.050±0.000
Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	0.439 ± 0.003	0.044±0.000
Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	0.417±0.000	0.042±0.000
Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%	0.457±0.005	0.046±0.001

coeficiente de correlación es de $R^2 = 0.999$; el ensayo se realizó mediante un método espectrofotométrico con cloruro de aluminio.

Para la cuantificación fueron realizadas diluciones de las tinturas, con el fin de que las absorbancias obtenidas se encuentren dentro de la curva de calibración. Los resultados son reportados en la Tabla 9-3 y el reporte expresa los datos en mg equivalentes de quercetina por mL de tintura y en porcentaje.

Tabla 9-3 Resultados de la cuantificación de flavonoides.

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Según los valores de la tabla anterior el porcentaje de flavonoides expresados como quercetina es bajo, sobresaliendo dentro de este el valor obtenido en el análisis de la tintura de matico con

un porcentaje de 0.050 ± 0.000 , al ser esta tintura madre la que contiene mayor cantidad de flavonoides se puede definir que al combinar esta con la tintura de acíbar de sábila el producto final posee un porcentaje considerablemente mayor de compuestos flavónicos, comprobando así que al realizar mezclas de diferentes plantas se puede mejorar las capacidades de uno de estos.

3.1.8. *Determinación de la capacidad captadora de radicales libres mediante el método de DPPH**

Para la determinación de la capacidad antioxidante de las tinturas a base de acíbar de sábila y matico, se siguió el método de DPPH*, tomando en cuenta en primero lugar la cinética de reacción de cada una de las tinturas la misma que presenta una cinética de primer orden donde una vez terminan la reacción las absorbancias medidas a un tiempo determinado terminan siendo constantes, siendo para esto necesario un tiempo de 60 minutos donde la medición de la absorbancia permaneció estable.

Los resultados fueron expresados como concentración media inhibitoria, y cada una con su respectivo rango, donde se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 10-3 Determinación de la capacidad captadora de radicales libres

TINTURA	CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA	LIMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Tintura de Acíbar de sábila 20%	112685,3 µg/ml	101467,5 µg/ml	125217,7 µg/ml
Tintura de Matico 20%	2085,46 µg/ml	2274,29 µg/ml	1925,47 µg/ml
Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	6180,42 µg/ml	4642,93 µg/ml	8275,06 µg/ml
Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	3129,69 µg/ml	2466,41 µg/ml	3973,25 µg/ml
Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%	2730,116 µg/ml	2259,337 µg/ml	3298,16 µg/ml
ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO	34,4003 µg/ml	20,0578 µg/ml	59,4612 µg/ml

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Según lo expuesto en la tabla anterior la concentración media inhibitoria de las tinturas presenta valores elevados de sustancia para poder neutralizar los radicales libres presentes en las soluciones.

Dado que la concentración media inhibitoria debe ser más cercana al estándar para reconocer cual posee una mejor actividad antioxidante, entre tinturas se toma el valor de 2085,46 µg/ml, perteneciente a la tintura de matico al 20% como la solución con mayor capacidad antioxidante.

Al comparar entre tinturas madres la tintura de matico al 20% posee aproximadamente cincuenta veces mejor capacidad antioxidante que la tintura de acíbar de sábila al 20%, dado que la concentración media inhibitoria de esta es de 112685,3 µg/ml.

Cotejando los resultados obtenidos de las combinaciones de las tinturas madres de estas la que posee mejor actividad es la que presenta una concentración de 30% de acíbar de sábila y 70% de matico, con un valor de 2730,116 µg/ml, dato más cercano a la tintura madre.

La actividad antioxidante de las tinturas se encuentra plena mente relacionada con los análisis de cuantificación de fenoles y flavonoides revisados anteriormente.

Es necesario manifestar que no se realiza una comparación bibliográfica de la actividad antioxidante de las tinturas, dado que no existe evidencia bibliográfica de esta.

Acotando que no necesariamente las plantas poseen una escasa actividad biológica, si no que su contenido alcohólico es bajo y no permite extraer compuestos en su totalidad como lo haría un solvente de grado alcohólico mayor.

3.1.9. Actividad antiinflamatoria

Para la actividad antiinflamatoria se indujo inflamación a la pata derecha de ratas (*Rattus norvegicus*), Se calculó el porcentaje de eficiencia antiinflamatoria de los tratamientos aplicados obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 11-3 Determinación de la eficiencia antiinflamatoria de tinturas vegetales.

TRATAMIENTO	PORCENTAJE DE EFICACIA ANTIINFLAMATORIA MÁXIMA (t= 6 HORAS)
Control positivo (diclofenaco sódico 50mg)	45.214 ± 5.546
Tintura de Acíbar de sábila 20%	37.259 ± 7.676
Tintura de Matico 20%	39.389 ± 13.315

Tintura acíbar de sábila 70% matico 30%	30.101 ± 9.240
Tintura acíbar de sábila 50% matico 50%	34.212 ± 10.859
Tintura acíbar de sábila 30% matico 70%	35.499 ± 8.145

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Con los datos expuestos en la tabla anterior se manifiesta que el porcentaje de eficiencia de inhibición de las tratamientos es bajo, dado q los valores se encuentran por debajo del porcentaje de eficiencia del control positivo, que en efecto el fármaco utilizado posee una eficiencia antiinflamatoria por debajo del 50%.

El análisis estadístico fue realizado con la herramienta ANOVA de un factor, la misma que se basa en el cumplimiento de dos supuestos fundamentales que es la normalidad y la homocedasticidad de los datos, para lo cual con la ayuda del programa estadístico SPSS se obtiene el resultado del estadístico de Levene que permite definir si existe homogeneidad de varianzas, del cual se obtuvo que los datos arrojados para la eficiencia antiinflamatoria son homogéneos ya que el nivel de significancia al ser mayor a 0.05 acepta esta hipótesis.

Tabla 12-3 Homogeneidad de varianzas

EFICIENCIA_ANTIINFLAMATORIA			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,875	6	35	,113

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Con esta aseveración de que existe homogeneidad y homocedasticidad entre los datos se aplica el test ANOVA obteniendo:

Tabla 13-3 Test ANOVA de un factor

Elaborado por: Paulina Núñez, 2016

Dónde al obtener un nivel de significancia menor a 0.05, se interpreta que las medias de los datos obtenidos para el porcentaje de la eficiencia antiinflamatoria son significativamente diferentes entre un tratamiento y otro.

Siendo así, se relacionan los datos obtenidos del estadístico con los resultados del porcentaje de la eficiencia antiinflamatoria y se define que el mejor resultado para inhibición de la inflamación inducida por carragenina en edema plantar es el tratamiento de la tintura de matico al 20%, cuyo valor es de 39.386%, ya que es el valor más cercano al porcentaje de eficiencia de inhibición del control positivo, en este caso la mezcla de tinturas no proporcionó un efecto sinérgico en las combinaciones ya que los valores del porcentaje de inhibición son inferiores los porcentajes de las tinturas madres.

EFICIENCIA_ANTIINFLAMATORIA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1201,721	6	200,287	5,109	,001
Dentro de grupos	1372,034	35	39,201		
Total	2573,755	41			

CONCLUSIONES

1. Las tinturas presentaron buenas condiciones organolépticas físicas, químicas y microbiológicas, ya que los resultados arrojados por los análisis se encuentran dentro de los rangos normales, y permiten hacer uso de las tinturas por no poseer problemas de estabilidad, y son inocuos.
2. La actividad antiinflamatoria de las tinturas elaboradas a base de Matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*), presentan una eficiencia antiinflamatoria baja, ya que los resultados arrojados se encuentran por debajo del 70%, porcentaje que demuestra que una determinada sustancia realmente posee un efecto antiinflamatorio, siendo así la tintura de matico (*Eupatorium glutinosum*) con una eficacia antiinflamatoria de 37.259 ± 7.676 %, la que mejor actividad antiinflamatoria supone en frente al resto de tinturas analizadas.
3. La capacidad antioxidante de las tinturas elaboradas a base de Matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*), no presentan actividad antioxidante relevante, dado que los resultados obtenidos al ser comparados con el estándar de ácido gálico cuya concentración fue de 34,4003 µg/ml, presentaron concentraciones cincuenta veces mayores, determinando que su uso como antioxidante no es efectivo ya que su concentración es muy alta para este efecto, pero a pesar de estos resultados al comparar las concentraciones

inhibitorias medias de las tinturas la tintura de Matico (*Eupatorium glutinosum*), fue la tintura con un mejor resultado con 2085,46 µg/ml de CIM.

RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio toxicológico de las tinturas de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) y matico (*Eupatorium glutinosum*), y las combinaciones de estos, para verificar si existe daño tisular.
2. Se recomienda evaluar la actividad biológica de las plantas material de estudio de esta investigación con la utilización de extractos, con un solvente de mayor concentración que logre obtener de la planta una cantidad de metabolitos secundarios elevada.
3. Cambiar la vía de administración de las tinturas a una administración tópica, de manera que se pueda evaluar el efecto de forma distinta, ya que al tener un pH a fin con la piel puede ejercer una mejor acción.
4. Realizar un estudio de *IN VITRO*, de la actividad antiinflamatoria de las tinturas, para comprobar si en realidad el efecto antiinflamatorio presenta una baja eficacia, o el modelo experimental usado no ayudó a un buen efecto.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. **ALOMAR, María Fernanda.** *ANTIOXIDANTES: cantadores de radicales libres ó sinónimo de salud.* . [en línea]. Universidad de Granada. 2010. [Consulta: 15 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>
- [2]. **AVELLO, Marcia; SUWALSKY, Mario.** *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección.* Atena. [en línea]. 2006. (Chile) 1 (494). pp. 161-162. [Consulta: 18 marzo 2016]. ISSN: 0716-1840. Disponible en: <https://lipidos.files.wordpress.com/2013/01/32849410_resumen_1.pdf>
- [3]. **ÁVILA, María Eugénia.** *Extractos y tinturas.* [en línea]. Colombia: 2002. [Consulta: 18 octubre 2015]. Disponible en: http://www.biocomerciocolombia.com/docs/biocomercio_andino/Componente%202/Proyecto%20Etnobotanica/CAPACITACIONES%20VILLA%20DE%20LEYVA/CAPACITACION%20EXTRACTOS%20Y%20TINTURAS.pdf
- [4]. **BARRENO, Pedro.** *"Inflamación"*. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 2008. (España) 102 (1), pp. 91-159. [Consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: <<http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>>.
- [5]. **BERMUDEZ, Alexis; OLIVEIRA-MIRANDA, et al.** *"La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales"*. Revista de Ciencia y Tecnología de América. 2005, (Venezuela) 30 (8), pp. 453-459. [Consulta: 16 marzo 2016]. ISSN: 0378-1844. Disponible en : <http://www.redalyc.org/pdf/339/33910703.pdf>
- [6]. **BOUAYED, Jaouad; BOHN Torten.** *Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state.* Landes Bioscience. 2010. (Luxembourg) 3 (4). pp. 223-237.
- [7]. **BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; et. al.** *Use of free radical method evaluate antioxidant activity.* Lebens-wiss- Food Science and Techonology. 1994, (France) 28 (1), pp. 25-30
- [8]. **BRENDA, Fina.** *Estrés oxidativo.* Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral Facultad de Ciencias Médicas. [en línea]. Argentina. 2009. Consulta: 19 marzo 2016].

Disponible en :
<http://www.biologiaosea.com.ar/files/seminarios/sem%20estres%20oxidativo.pdf>

- [9]. **BUESTAN, Andrea del Rocío; GUARACA, Anita.** Actividad anti-inflamatoria de los extractos de plantas medicinales empleados en el Austro Ecuatoriano en el modelo de Danio rerio. (Tesis) (Pre-grado) Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Cuenca, Ecuador. 2013. pp 27-29 [Consulta: 22 octubre 2015]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/547/1/tesis.pdf>
- [10]. **CARDOZO, C.; OSORIO, C.; RODRIGUEZ, E..** *El animal como sujeto experimental aspectos técnicos y ético.* [PDF]. Universidad de Chile-Chile: Andros, 2007. [Consulta: 26 octubre 2015]. Disponible en: <http://actabioethica.cl/docs/elanimal.pdf>
- [11]. **CASANOVAS, Roser; LÓPEZ, María.** *Gel de áloe.* Revista de fitoterapia. Vol 1, n° 4. (2001). (Ecuador). Pp 245-256
- [12]. **CASTAÑEDA C.B.; IBÁÑEZ V.L.** "Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas". Revista Horizonte Médico. 2008, (Perú) 8 (1), pp 56-72. [Consulta: 17 marzo 2016]. Disponible en : <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/viewFile/196/209>
- [13]. **CONCEPCIÓN, Ángel; DE LA Peña, R.; GARCÍA, J..** *Acercamiento al accionar ético-moral del científico que trabaja con animales de experimentación.* [en línea]. 2007. (Cuba) 13 (1), [Consulta: 16 marzo 2016]. ISSN 1726-569X. Disponible en : http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S1726-569X2007000100002&script=sci_arttext
- [14]. **CORRALES, Lucía; MUÑOZ, Maira.** *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno.* Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. [en línea]. 2012. (Bogotá) 10 (18), pp. 132-150. [Consulta: 21 marzo 2016]. ISSN 1794-2470. Disponible en : <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
- [15]. **CRESPO, Antonio; MINDEROS, Raúl.** *ETNOMEDICINA: Progresos Ítalo-Latinoamericanos.* Segunda edición. Quito: Abya Yala, 1995, pp. 198-201
- [16]. **CRUZ, Mónica.** *Propiedades de la sábila.* [blog]. 2008. [Consulta: 18 octubre 2015]. Disponible en: <http://propiedadesnaturalesdelasabila.blogspot.com/2008/10/propiedades-medicinales.htm>

- [17]. **DIAZ, Nieves; RUIS, Antonio; et. al.** *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Departamento de Bioquímica Molecular. Campus Universitario de Rabanales. [en línea]. 20008. (Córdoba). pp. 1-8. [Consulta: 22 marzo 2016]. Disponible en: http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf
- [18]. **DOMINGUEZ-FERNÁNDEZ, R.N.; ARZATE-VÁZQUEZ, et. al.** "El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria". *Revista Mexicana de Ingeniería Química* [en línea], 2012, (México) 11 (1), pp. [Consulta: 18 octubre 2016]. ISSN 1665-2738. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100003
- [19]. **EL-SEEDI; OHARA, T.; SATA, N.; et. al.** "Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae)". *Journal of Ethnopharmacology*. [en línea], 2002, (Japan) (81), pp. 293-293 [Consulta: 18 octubre 2015]. Disponible en: [http://sci-hub.io/10.1016/S0378-8741\(02\)00101-0](http://sci-hub.io/10.1016/S0378-8741(02)00101-0)
- [20]. **FERRAR, GM.** *Revisión de la aloe vera (barbadensis Miller) en la dermatología actual*. *Revista Argentina de Dermatología*. [en línea]. 2009 (Ciudad Autónoma de Buenos Aires) 90 (4). [Consulta: 14 octubre 2015]. ISSN 1851-300X. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2009000400004
- [21]. **GARCÍA, C.A; GUTIÉRREZ, D.M.; Olmos, A.** *Cuantificación de fenoles totales en *Amaranthus hybridus*, *Cosmos bipinnatus* y *Cynodon dactylon* plantas malezas del estado de Querétaro*. [en línea]. (Tesis) (Maestría). Universidad autónoma de Querétaro, Dirección de Investigación y posgrado. Querétaro. 2004. pp. 1-5. [Consulta: 18 marzo 2016]. Disponible en : <http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-VIII/UAQLocalOrtizGarcia.pdf>
- [22]. **GUTIÉRREZ, José.** *¿Qué Sabe Usted Acerca De... Radicales Libres?* *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. [en línea]. 2006. (México) 37 (4). pp. 69-73. [Consulta: 18 marzo 2016]. ISSN: 1870-0195. Disponible en : <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937409.pdf>
- [23]. **HALL, Victoria; MURILLO, Nathalia; et. al.** "Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)". Centro Nacional de Información de Medicamentos. [en línea]. Universidad de

- Costa Rica. Costa Rica. 2001. pp. 4-8. [Consulta: 17 marzo 2016]. Disponible en: <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed18.pdf>
- [24]. **INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA.** *"Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México.* México: José Ángel de la Cruz Campa. 1994. [Consulta: 14 marzo 2016]. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/74/sabila.html>
- [25]. **LEYVA, Rocío; MARTÍNEZ, Octavio; et. al.** *Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroides a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide II.* [en línea]. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas. 2007 (México) 12 (1), pp. 41-45. Consulta: 15 octubre 2015]. ISSN: 1665-7330. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47311958007>>7
- [26]. **LÓPEZ, Tránsito.** *Áloe vera Actividad farmacológica, indicaciones y reacciones adversas.* OFFARM. Vol. 23, n° 9 (2004). (España). Pp. 96-100
- [27]. **LORENZANA, Luis.** *Inflamación y dolor.* Laboratorios Virbac México. 2011. [Consulta: 15 octubre 2015]. Disponible en: [http://www.ruminal.com.ar/sites/default/files/Inflamaci%C3%B3n%20y%20dolor%20\(Etodolac\).pdf](http://www.ruminal.com.ar/sites/default/files/Inflamaci%C3%B3n%20y%20dolor%20(Etodolac).pdf)
- [28]. **MARTINEZ, Eugenio.** *Manual de homeopatía microdosis.* Meseta Purépecha: CREFAL, 1988. pp 9- 15.
- [29]. **MERCK S.A..** *La quercetina.* [en línea]. Brasil: [Consulta: 14 octubre 2015]. Disponible en: <http://dietcan.net/docs/QUERCETINALabMerck.pdf>
- [30]. **MOREANO, Simón.** *Análisis Químico Instrumental I. Riobamba -Ecuador:* E-copycenter, 2011 pp 48.
- [31]. **OLIVARES, Luis; BETANZOS, Gabriel; et. al.** *Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo.* Revista de Investigación y Ciencias de la Universidad e Aguas Calientes. [en línea]. 2010. (México) 1 (50). pp. 10-15. [Consulta: 18 marzo 2016]. ISSN: 1870-0195. Disponible en : <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937409.pdf>
- [32]. **OMS.** *"Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales".* [en línea]. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 22 junio 2004

- [Consulta: 15 marzo 2016]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
- [33]. **PALADINO, SILVIA.** *Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la Vid (Vitis vinifera L.).* (Tesis) (Maestría). Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan. 2002. [Consulta: 15 octubre 2015]. Disponible en: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino.pdf
- [34]. **PAREDES, F.; YANAVILCA, R.; FERNÁNDEZ, A.; TARMEÑO, R.** *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón.* Perú: Carolina Tarqui Mamani. 2008. [Consulta: 26 octubre 2015]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf
- [35]. **PEREIRA.** *Plantas medicinales-Matico, Descripción y usos medicinales.* [blog]. 2012. [Consulta: 16 marzo 2016]. Disponible en: <http://plantasmedicinalesquecuran1.blogspot.com/2012/12/plantas-medicinales-matico-descripcion.html>
- [36]. **PEREZ, Ángeles.** *Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroideos.* [en línea]. Unidad de digestivo Agencia Sanitaria Costa del Sol. 2012. [Consulta: 15 octubre 2015]. Disponible en: http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/documento-grupo/antiinflamatorios_no_esteroideos_aines.pdf
- [37]. **PÉREZ, Cosme.** *El uso de las plantas medicinales.* Revista intercultural. [en línea]. 2008. (Veracruz) [Consulta: 18 octubre 2015]. Disponible en: http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6_p23-26_2010-0.pdf
- [38]. **REQUENA, Guisado; BARRILAO, Guisado; et. al.** *Oxidación y producción de radicales libre.* [en línea]. Universidad de Granada. 2007. [Consulta: 15 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.revista-scientia.es/files/2007/6.pdf>
- [39]. **ROBLEDO, Gloria.** *Inflamación .Revista Facultad de medicina UNAM.* 2008. (México) 51 (5). pp. 220-222.
- [40]. **SCHWEIZER, Marc.** *ALOE VERA La planta que cura.* [pdf]. Paris: APB. 1994. [Consulta: 16 octubre 2015]. Disponible en: <http://www.aloeinfo.info/aloespdf>

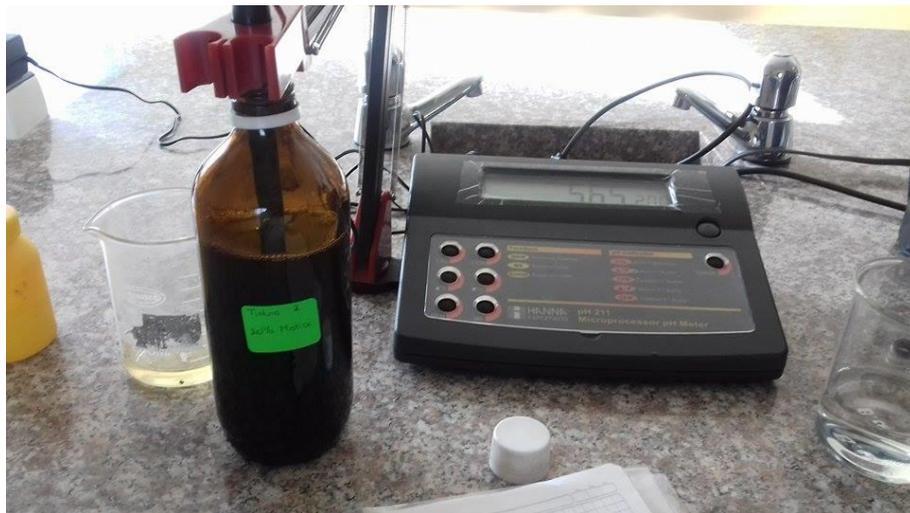
- [41]. **STEVENS, Neil.** *Aloe vera*. Séptima edición. Málaga-España. 2006. pp. 111-113
- [42]. **UNIVERSITY OF MICHIGAN.** *Qué es el estrés oxidativo*. Environmental Health Science. [en línea]. Michigan. 2012. [Consulta: 22 marzo 2016]. Disponible en : <http://ehscc.umich.edu/wp-content/uploads/OxidativeStressSPN.pdf>
- [43]. **VARELA, Javier.** Fraccionamiento bioguiado del extracto hidro- etanólico de Aristiguieta glutinosa Lam. y elucidación estructural de los principios activos anti *Tripanosoma cruzi*. (Tesina) (Pre-grado). Universidad de la República Montevideo, Facultad de Ciencias, Facultad de Ciencias. (Montevideo, Uruguay). 2011. [Consulta: 22 octubre 2015]. Disponible en: <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/pasan/uy24-15195.pdf>
- [44]. **VÁSCONEZ, A.** "COMPARACIÓN DLE EFECTO CICATRIZANTE DE LAS TINTURAS ELABORADAS A BASE DE MATICO (*Eupatorium glutinosum*) Y ACÍBAR DE SÁBILA (*Aloe barbadensis*) APLICADO EN RATONES (*Mus musculus*) (Tesis). ESPOCH. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2015. 38-51.
- [45]. **VEGA, Antonio; AMPUERO, Nevenka; et. al.** *El Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) como componente de alimentos funcionales*. Revista Chilena de Nutrición SCIELO, [en línea]. 2005. (Chile) 32 (3), pp. 41-45. Consulta: 15 octubre 2015]. ISSN: 1665-7330. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182005000300005
- [46]. **VENEREO, Justo.** *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidante*. Revista cubana De Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". [en línea]. 2002. (Cuba) 31 (2). pp. 123-133. [Consulta: 18 marzo 2016]. Disponible en : http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
- [47]. **WAGNER & BLANT.** *Plant Drug Analysis. segunda edición. Munich. Springer, 1996. pp. 195-198*
- [48]. **WAIZEL-BCUAY, José.** *"Plantas y compuestos importantes para la medicina"*. Revista de fitoterapia. 2011. (México D.F.) 11 (1), pp 61-7

ANEXOS

Anexo A. Tinturas de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) y Matico (*Eupatorium glutinosum*)



ANEXO B. Medición de pH de tinturas



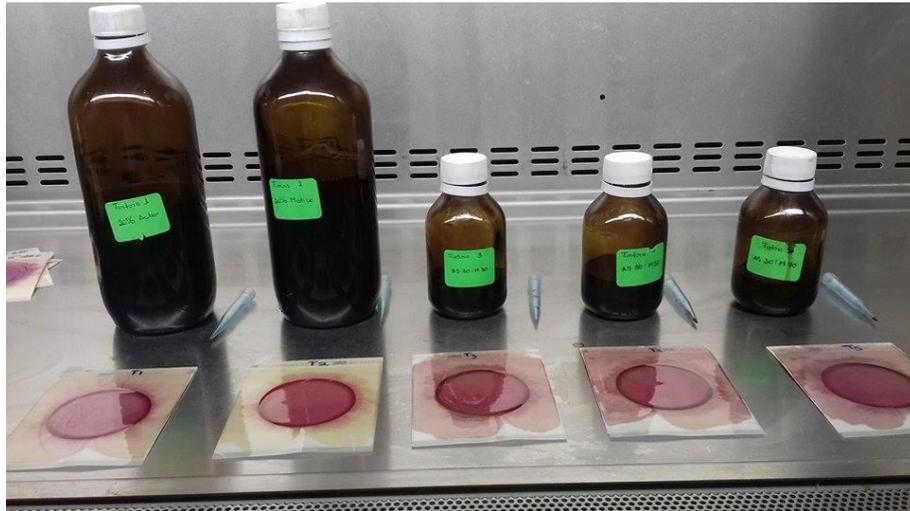
ANEXO C. Determinación de sólidos totales de tinturas vegetales



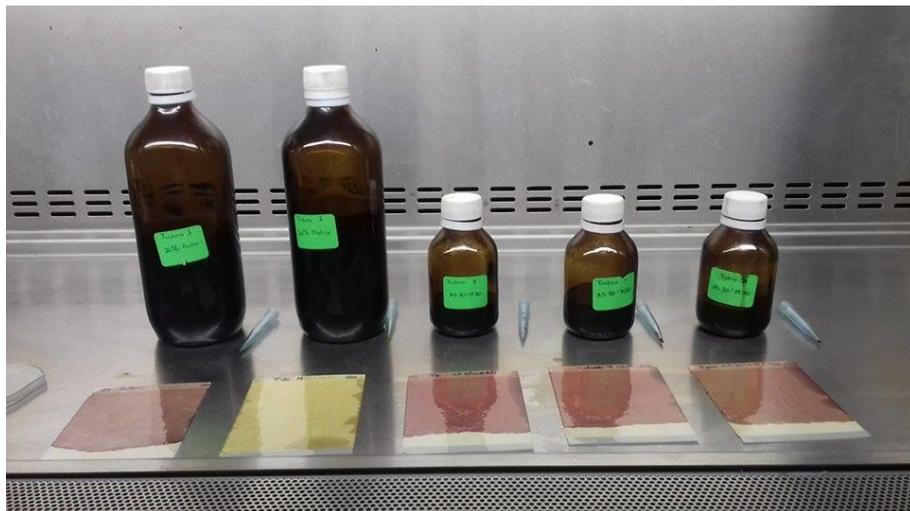
ANEXO D. Control de calidad organoléptico de las tinturas



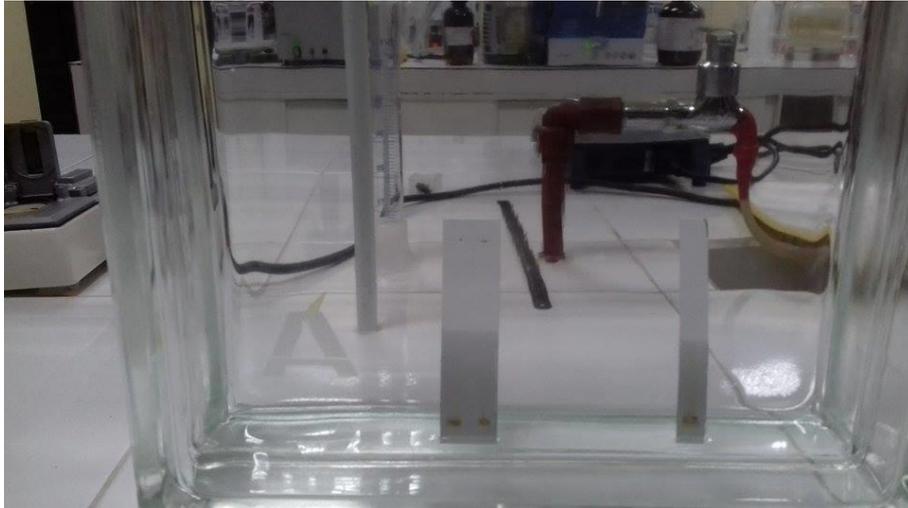
ANEXO E. Control de calidad organoléptico de las tinturas



ANEXO F. Control de calidad microbiológico Aerobios mesófilos



ANEXO G. Cromatografía Capa Fina



ANEXO H. Cromatografía tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) lámpara UV



ANEXO I. Cromatografía capa fina de matico (*Eupatorium glutinosum*)



ANEXO J. Cromatografía tintura de acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*)



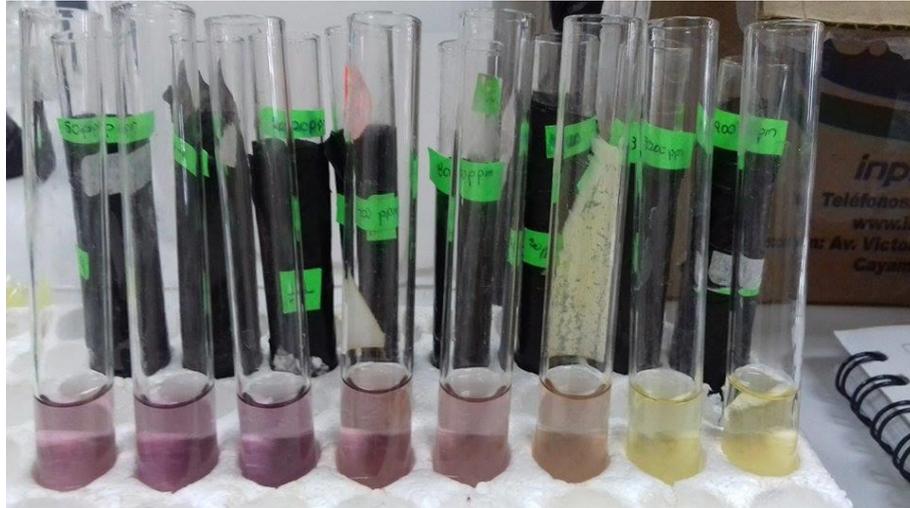
ANEXO K. Soluciones de ácido gálico para curva de calibración de cuantificación de fenoles totales



ANEXO L. Filtración de tintura de acíbar de sábila



ANEXO M. Ensayo DPPH tinturas



ANEXO N. Materiales y soluciones para evaluación de actividad antiinflamatoria en edema plantar inducido por carragenina



ANEXO O. Cuidado y mantenimiento de animales de experimentación



ANEXO P. Animal de experimentación rata (*Rattus norvegicus*)



ANEXO Q. Inducción de solución de carragenina al 1% en suero fisiológico



ANEXO R. Medición de volumen de la pata posterior derecha inflamada



ANEXO S. Administración vía oral de tinturas



ANEXO T. Acta de entrega – recepción de animales de experimentación por parte del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública

 Instituto Nacional
de Investigación
en Salud Pública
CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE VECTORES

ACTA DE ENTREGA – RECEPCIÓN

Por medio del presente certifico que el Centro de Referencia Nacional de Vectores, el día 17 de diciembre del presente realizó la entrega de:

- 42 ratas (*Rattus norvegicus*) 20 machos y 22 hembras

Dicha entrega se la realiza para el cumplimiento de los objetivos planteados en los trabajos de investigación a desarrollarse en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de ESPOCH.

Entregado

Recibido por


Blga. Jenny Muñoz Aroca
Responsable CRN Vectores


Srta. Paulina Núñez
Egda. Escuela de Bioquímica y
Farmacia "ESPOCH"