



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

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE EXTRACTOS
HIDROALCOHÓLICOS DE HOJAS DE *Myrcianthes hallii*”**

AUTOR: EDUARDO GABRIEL MIRALLAS AGUILA
TUTORA: BQF. GISELA PILCO, M.Sc.

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Previo a la obtención del Título de:
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Riobamba-Ecuador
2018

©2018, Eduardo Gabriel Mirallas Aguila

Se autoriza la reproducción parcial o total, 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 Titulación de Tipo Experimental: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE HOJAS DE *Myrcianthes hallii*”** de responsabilidad del señor egresado Eduardo Gabriel Mirallas Aguila, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Gisela Pilco, M.Sc. DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	2018 – 05 – 18 _____
BQF. Estela Méndez, M.Sc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2018 – 05 – 18 _____

Yo, Eduardo Gabriel Mirallas Aguila, declaro que el contenido, ideas, doctrinas que se presentan en este trabajo de titulación son de mi responsabilidad, los resultados son verídicos y el patrimonio intelectual de este trabajo de titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Eduardo Gabriel Mirallas Aguila

DEDICATORIA

A Dios por guiarme por el camino correcto, por bendecirme con una familia estupenda y por todas las buenas y malas experiencias.

A mis padres y hermana que son la razón de mi completa felicidad y el deseo de seguir superándome, que siempre están presentes brindando un sabio consejo y el apoyo incondicional ante las adversidades de la vida.

Gabriel

AGRADECIMIENTO

A Dios por mantenerme firme ante las pruebas que día a día se presentan, por brindarme su amor y sabiduría.

A Milton y Celeste mi mayor bendición que siempre me brindan su apoyo, consejos y ejemplo que con esfuerzo y dedicación toda es posible en la vida.

A mí querida hermana que con sonrisas y hermosas palabras siempre me anima a seguir luchando por mis sueños.

A ti Joha, que has llegado a formar parte de mi vida, sueños e ilusiones; me has brindado tu apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, te doy las gracias amor.

A todos mis amigos que siempre me brindaron su apoyo y consejos a lo largo de este camino, compartiendo gratas experiencias e inolvidables recuerdos, a todos ustedes gracias.

Mi más sincero agradecimiento a la BQF. Gisela Pilco M.Sc., al BQF. Diego Vinueza M.Sc., y a la BQF. Karina Yanza por haber sido parte del presente trabajo de titulación, brindándome su tiempo, consejos y conocimientos, preparados siempre a ofrecer su apoyo para afrontar cualquier dificultad y lo más importante su amistad.

Agradezco a la BQF Estela Méndez por haber formado parte del trabajo de titulación, estando siempre presente brindando su ayuda y compartiendo sus conocimientos.

Gabriel

CONTENIDO

RESUMEN	XIV
SUMMARY	XV
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Biodiversidad	1
1.1.1 Biodiversidad en el Ecuador	1
1.2 Familia de <i>Myrtaceae</i>	2
1.2.1 <i>Myrcianthes hallii</i> (O. Berg) McVaugh	2
1.2.2 Clasificación taxonómica	3
1.2.3 Descripción botánica	3
1.2.4 Componentes importantes	3
1.2.5 Usos	4
1.3 Actividades Biológicas comprobadas.	5
1.4 La Inflamación	5
1.4.1 Clasificación de la Inflamación	5
1.4.2 Fases del proceso inflamatorio	7
1.4.3 Liberación de mediadores	7
1.4.4 Efecto de los mediadores	8
1.4.5 Llegada de mediadores al foco inflamatorio	9
1.4.6 Regulación de la respuesta inflamatoria	11
1.4.7 Reparación	12
1.5 Tratamiento	12
1.5.1 Tratamiento Farmacológico	12
1.5.1.1 Antiinflamatorios no esteroideos	12
1.5.1.2 Glucocorticoides	14
1.5.2 Tratamiento no farmacológico	15

1.6 Estudios sobre la actividad antiinflamatoria	15
<i>1.6.1 Edema Auricular inducido por TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol)</i>	15
<i>1.6.2 Edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata</i>	16
<i>1.6.3 Método de Whittle</i>	16
<i>1.6.4 Método de cuantificación de eicosanoides mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)</i>	17
<i>1.6.5 Modelos de evaluación in vitro de la actividad antiinflamatoria</i>	17
<i>1.6.6 Ensayos in vitro colorimétricos con sales de tetrazolio</i>	17
1.7 Antioxidante	18
<i>1.7.1 Radical libre</i>	18
<i>1.7.2 Capacidad captadora de radicales libres. Método DPPH'</i>	18
CAPITULO II	19
2. MARCO METODOLÓGICO	19
2.1 Lugar de investigación	19
2.2 Recolección del material vegetal	19
2.3 Identificación del Material Vegetal	19
2.4 Material vegetal	19
2.5 Equipos y reactivos	19
<i>2.5.1 Equipos</i>	19
<i>2.5.2 Reactivos</i>	21
2.6 Técnicas y métodos	22
<i>2.6.1 Secado y molienda de la materia vegetal</i>	22
<i>2.6.1.1 Secado</i>	22
<i>2.6.1.2 Molienda</i>	23
<i>2.6.2 Control de calidad</i>	23
<i>2.6.2.1 Determinación de cenizas totales</i>	23
<i>2.6.2.2 Determinación de cenizas solubles en agua</i>	24
<i>2.6.2.3 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	25
<i>2.6.2.4 Determinación del contenido de humedad (Método gravimétrico)</i>	25
<i>2.6.3 Tamizaje fitoquímico</i>	26
<i>2.6.4 Obtención del extracto hidroalcohólico</i>	28

2.6.4.1 Determinación de los requisitos organolépticos	28
2.6.4.2 Determinación de densidad relativa	29
2.6.4.3 Determinación del índice de refracción	29
2.6.4.4 Determinación del pH	29
2.6.4.5 Determinación de sólidos totales	30
2.6.5 Obtención del extracto liofilizado	31
2.6.6 Cuantificación de fenoles totales	31
2.6.7 Cuantificación de flavonoides totales	32
2.6.8 Ensayo antioxidante por el método DPPH	33
2.6.9 Ensayo Antiinflamatorio	33
2.6.10 Análisis estadístico	34
CAPITULO III	35
3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
3.1 Control de calidad de la droga cruda de hojas Myrcianthes hallii	35
3.2 Análisis cualitativo	36
3.2.1 Tamizaje fitoquímico	36
3.3 Parámetros de calidad del extracto	39
3.4 Cuantificación de fenoles totales	40
3.5 Cuantificación de flavonoides totales	41
3.6 Ensayo de Actividad Antioxidante	42
3.7 Ensayo de la Actividad Antiinflamatorio <i>in vitro</i>	43
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1	Taxonomía de <i>Myrcianthes hallii</i>	3
Tabla 2-1	Usos de <i>Myrcianthes hallii</i>	4
Tabla 3-1	Clasificación de la Inflamación	6
Tabla 4-1	Factores encargados de la regulación de la respuesta inflamatoria	11
Tabla 5-1	Isoformas de la ciclooxigenasa (COX)	13
Tabla 6-1	Clasificación de los AINES según su estructura química.	13
Tabla 7-1	Clasificación de los AINES según vida media plasmática.	14
Tabla 8-1	Aplicación de los tratamientos	15
Tabla 1-2	Equipos utilizados para el ensayo antiinflamatorio	20
Tabla 2-2	Reactivos utilizados para el desarrollo de los ensayos	21
Tabla 1-3	Resultados de parámetros de calidad	35
Tabla 2-3	Resultados del tamizaje fitoquímico de hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	36
Tabla 3-3	Parámetros de calidad del extracto de hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	39
Tabla 4-3	Cuantificación de fenoles totales por espectrofotometría	40
Tabla 5-3	Concentración de fenoles totales de diferentes especies vegetales	40
Tabla 6-3	Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría	41
Tabla 7-3	Concentración de flavonoides totales de diferentes especies vegetales	42
Tabla 8-3	Porcentaje de inhibición de la inflamación de muestras de hojas de <i>Myrcianthes hallii</i> a diferentes concentraciones	43
Tabla 9-3	Porcentaje de inhibición de la inflamación de muestras de Aspirina a diferentes concentraciones	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1	Distribución geográfica de la familia <i>Myrtaceae</i> .	2
Figura 2-1	<i>Myrcianthes hallii</i>	2
Figura 1-2	Protocolo de investigación	22
Figura 2-2	Secado de la planta	23
Figura 3-2	Molienda de la materia vegetal.	23
Figura 4-2	Cenizas totales	24
Figura 5-2	Protocolo de obtención de extractos	26
Figura 6-2	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto etéreo.	27
Figura 7-2	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto alcohólico.	27
Figura 8-2	Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto acuoso	28
Figura 9-2	Extracto hidroalcohólico	28
Figura 10-2	Determinación de pH	30
Figura 11-2	Sólidos totales	30
Figura 12-2	Extractos liofilizados	31
Figura 13-2	Fundamento de la reacción de Folin Ciocalteu	32
Figura 14-2	Fundamento de la reacción de Tricloruro de Aluminio	32

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1-3	Porcentaje de inhibición de la inflamación de hojas de <i>Myrcianthes hallii</i> y de Aspirina a diferentes concentraciones.	45
Grafico 2-3	Media de porcentaje de inhibición de la inflamación obtenidas del extracto de hojas de <i>Myrcianthes hallii</i> comparado con la Aspirina	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A	Localización y procesado de secado de hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo B	Hojas de <i>M. hallii</i> obtenidas de los extractos.
Anexo C	Extracto de hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo D	Tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo E	Humedad de hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo F	Determinación de Cenizas Totales, Solubles e Insolubles.
Anexo G	Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo H	Liofilización del Extracto Hidroalcohólico.
Anexo I	Solución de hojas de <i>M. hallii</i> para determinación de Flavonoides totales y Fenoles totales.
Anexo J	Determinación de Capacidad Antioxidante de hojas de <i>M. hallii</i> .
Anexo K	Ensayo de la Actividad Antiinflamatoria de <i>M. hallii</i> .
Anexo L	Pruebas de Normalidad para los datos obtenidos de hojas de <i>M. hallii</i> y Ácido Acetilsalicílico.
Anexo M	Prueba de Homogeneidad de Varianzas de los datos.
Anexo N	Prueba de ANOVA de los datos.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de titulación fue evaluar mediante ensayos *in vitro* la actividad antioxidante y antiinflamatoria de los extractos hidroalcohólicos de hojas de *Myrcianthes hallii* (Arrayán). Una vez recolectado el material vegetal se secó y trituró. Para obtener los extractos, las hojas se maceraron con etanol al 70% v/v, y se concentró en evaporador rotatorio bajo condiciones controladas, para posteriormente liofilizar los residuos. Los flavonoides espectrofotométricamente a través del método del Tricloruro de Aluminio, obteniendo los siguientes resultados: $11646,095 \pm 125,367$ mg Eq Q/100 mg de extracto liofilizado de hojas. La determinación de fenoles se realizó por el método de Folin-Ciocalteu dando el resultado de $45633,33 \pm 577,35$ mg Eq GAE/100 mg de extracto liofilizado de hojas. El extracto presentó una capacidad captadora de radicales libres a un IC_{50} de 102,45 $\mu\text{g/ml}$ con un rango de 87,67 a 119,72 $\mu\text{g/ml}$ para las hojas, el cual fue evaluado por el método de DPPH. El ensayo de actividad antiinflamatoria se llevó a cabo por el método *in vitro* de neutrófilos aislados, por medio de la determinación de una sal de tetrazolio estable (WST-1). Las hojas de *Myrcianthes hallii*, presentaron actividad antiinflamatoria a una IC_{50} de 31,68 $\mu\text{g/ml}$ con un rango que va de 21,23 – 46,19 $\mu\text{g/ml}$. La concentración de 200 ppm presentó el mejor porcentaje de inhibición inflamatoria para hojas con $79,67 \pm 3,02$ %. Estos porcentajes son mayores en comparación con el ácido acetilsalicílico usado como referencia que a 200 ppm presentó $68,88 \pm 3,90$ %. Los ensayos se realizaron por triplicado. Se concluyó en base al control de calidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes hallii* se determinaron factores como: requisitos organolépticos, densidad relativa, índice de refracción, sólidos totales y pH, dando resultados característicos de la especie y del solvente usado, por lo que se recomienda realizar ensayos sobre la actividad cicatrizante, antioxidante y antiinflamatoria haciendo uso de aceites esenciales y de la porción alcaloidal de las hojas de *Myrcianthes hallii*.

Palabras clave: <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES>, <BIOQUÍMICA>, <ARRAYÁN (*Myrcianthes hallii*)>, <SAL DE TETRAZOLIO (WST-1)>, <ASPIRINA>, <INHIBICIÓN DE INFLAMACIÓN>, <ANTIOXIDANTE>.

SUMMARY

The objective of the following investigation was to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory effects of the water-alcohol extracts of the *Myrcianthes hallii* (Arrayán) leaves using in vitro tests. Once the vegetable matter was collected, it was dried and ground. In order to obtain the extracts, the leaves were ground with 70% ethanol (v/v). Then, it was made more concentrated using a rotary evaporator under a controlled environment. After that, the refuse was freeze-dried. The flavonoids were processed using aluminum trichloride and a spectrophotometer, through which the following results were obtained: 11646, 095 ± 125, 367 mg (equiv) Q/100 mg of freeze-dried extract of leaves. The phenols were determined using the Folin-Ciocalteu method, through which, 45633, 33 ± 577, 35 mg equiv GAE/ 100 mg of freeze-dried extract of leaves were obtained. The extract's capacity of attracting free radicals at a half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of 102, 45 mcg /ml with a range of 87, 67 to 119, 72 mcg /ml for the leaves was evaluated using the DPPH method. The anti-inflammatory trial was carried out using the in vitro of isolated neutrophils method. A stable tetrazolium chloride (cell proliferation reagent, wst-1) was used during this process. The leaves of *Myrcianthes hallii* had an anti-inflammatory effect at a half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of 31,68 mcg /ml with a range from 21,23 to 46,19 mcg /ml. The 200-ppm concentration showed the best percentage of inflammatory inhibition for the leaves with 79, 67 ± 3,02 %. These percentages are greater in comparison with those of the acetylsalicylic acid (aspirin), using as a reference, that at 200-ppm showed 68,88 ± 3,90 %. The trials were carried out three times. The following factors were determined, based on the quality control of the water-alcohol extracts of the *Myrcianthes hallii*: organoleptic requirements, relative density, refraction index, total solids and ph. The results obtained were characteristic of this specie and the solvent used. For these reasons the authors recommend to do clinical trials in order to evaluate the healing, antioxidant and anti-inflammatory effects using the essential oils and the alkaloidal portion of the *Myrcianthes hallii* leaves.

Key words: <EXACT AND NATURAL SCIENCES>, <BIOCHEMISTRY>, <*Myrcianthes hallii* (ARRAYÁN)>, <TETRAZOLIUM CHLORIDE (CELL PROLIFERATION REAGENT, WST-1)>, <ASPIRIN (ACETYLSALICYLIC ACID)>, <INFLAMMATION INHIBITION>, <ANTIOXIDANT>.

INTRODUCCIÓN

El uso del conocimiento y poderes curativos de las diferentes plantas y animales, en la mayoría de comunidades indígenas, no tiene un costo y muchas de las personas comparten su sabiduría. En muchos de los casos las plantas usadas en la preparación de curaciones se encuentran en el bosque, que es de uso y propiedad colectiva, o son parte de los bienes que circulan y representan un orden social basado en la reciprocidad (Bravo-Velásquez, 2014).

Por lo tanto, es necesario comprobar las actividades que se atribuyen a las diferentes especies usadas en la cura de enfermedades, las mismas que tienen menor costo y un alto índice de seguridad y efectividad. En este contexto, se define a la Fitoterapia como la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico (Cañigueral, Dellacassa, & Bandoni, 2003).

La inflamación se define como la respuesta protectora del cuerpo a la infección bacteriana y otros estímulos ambientales, que generalmente causan daño tisular. Este proceso está caracterizado por los cuatro signos de Celso: calor, rubor, tumor y dolor en el sitio inflamado. La inflamación es reconocida recientemente como una de las características del cáncer humano (Leisher et al, 2012), debido a que en la inflamación crónica se presenta la activación persistente del sistema inmune, que resulta inevitablemente en la acumulación de aberraciones genéticas y epigenéticas, y en consecuencia conduce a una transformación maligna, de igual forma, se ha evidenciado que la inflamación aguda contribuye a la regresión tumoral. Por lo tanto, estudios recientes se enfocan en el tratamiento de las moléculas involucradas en la inflamación y el cáncer ya que los mediadores presentes en ambas afecciones comparten cierta similitud (Mizushima et al, 2013).

La industria farmacéutica provee a la población diversos tratamientos para calmar los síntomas provocados por la inflamación, como los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y los glucocorticoides. Sin embargo, pese a su utilidad la sociedad los usa de manera indiscriminada, lo cual acarrea problemas relacionados a su abuso, llegando a causar importantes complicaciones de tipo: digestivas, cardiovasculares, renales, hepáticas y hematológicas (Bombardelli, E, et al, 2002: pp. 2).

La labor del Bioquímico Farmacéutico debe encaminarse hacia nuevos horizontes buscando un empoderamiento de nuestra profesión, explotando uno de los campos en los cuales nos preparamos con gran esfuerzo, como es la investigación de plantas nativas, para su futuro uso en formas farmacéuticas que ayuden a solucionar problemas de salud, y sobretodo que estén disponibles y sean de fácil acceso, llegando de esta manera a mejorar la calidad de vida de la población.

Myrcianthes hallii se conoce comúnmente como “Arrayán”, sus hojas se emplean en la preparación de la “colada morada” alimento tradicional del día de los difuntos. A nivel medicinal se usa como: antiséptico, desinfectantes, evita la aparición de arrugas en la piel, sirven para combatir enfermedades, los indígenas la utilizan para blanquear los dientes y preservarlos de las caries o para calmar el dolor de los pies y para protegerse de la gripe la persona debe bañarse y se toma la infusión de esta planta (Jaramillo, 2013:p 23-24), (Rios et al.,2007:p433-434).

En estudios realizados sobre la caracterización química y actividad antibacteriana *in vitro* de *Myrcianthes hallii* se elucidaron 38 compuestos flavónicos en las hojas de la planta, la mayoría de estos presentan actividad antibacteriana comprobada, es así que los flavonoides derivados de miricetina, quercetina y kaempferol son activos frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Chavez Carvajal *et al.*, 2016).

El presente trabajo de titulación se enfoca en la solución del problema social asociado a procesos inflamatorios y oxidativos, pero sobre todo se quiere hacer énfasis en el desarrollo de nuevas líneas de fitomedicamentos, con la utilización de modelos *in vitro*, proporcionando a la sociedad tratamientos más seguros y eficaces.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de *Myrcianthes hallii*.

Objetivos específicos

- Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos, etéreos y acuosos de las hojas de *Myrcianthes hallii* mediante tamizaje fitoquímico.
- Establecer la cantidad de flavonoides y fenoles presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de la especie vegetal usando un método espectrofotométrico.
- Comprobar la actividad antioxidante y antiinflamatoria de los extractos hidroalcohólicos de *Myrcianthes hallii* mediante los ensayos de DPPH y neutrófilos aislados respectivamente.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Biodiversidad

Término que engloba a las diferentes especies: vegetales, animales, fúngicas etc., que conviven en un entorno preestablecido, considerando la variación genética que se puede presentar en la población de una misma especie y en los diversos ecosistema. Se incluye de igual manera los procesos ecológicos y evolutivos a nivel de genes, especies, ecosistemas y paisajes (Bravo-Velásquez, 2014: pp.11).

1.1.1 Biodiversidad en el Ecuador

El Ecuador es considerado uno de los 17 países con mayor biodiversidad a nivel mundial, el país presenta gran variedad de especies por unidad de área mucho mayor al de otros países, y no se limita únicamente a la variabilidad de especies sino que además posee diferentes ambientes naturales o ecosistemas (Bravo-Velásquez, 2014b: pp.14).El país al encontrarse en una ubicación geográfica privilegiada, posee 4 regiones: costa, sierra, oriente e insular, cada zona cuenta con características ambientales y geográficas particulares que permiten la existencia de ecosistemas únicos en el mundo en donde subsisten diferentes especies (Bravo-Velásquez, 2014: pp.20-30).

Ejemplos de la gran biodiversidad que existe en el territorio ecuatoriano se ve reflejado en los bosques húmedos tropicales como el bosques de Esmeraldas, los cuales forman parte del último refugio de bosques tropicales de la costa del Pacífico en América, cuya extensión va desde el Sur de Panamá hasta el Norte de Esmeraldas. En esta zona hay unas 10.000 especies de plantas de las cuales 2.500 son endémicas; Bosques secos que empiezan a la altura de Jaramijó en Manabí, hasta la frontera del Perú siendo los Ceibos la especie más representativa (*Erythrina crista-galli*); Bosques de Manglar (*Rhizophora mangle*) que son especies de plantas leñosas que se desarrollan en lagunas, riberas y costas tropicales protegidas del oleaje, estas especies arbóreas han desarrollado tolerancia a altos niveles de salinidad, raíces aéreas en forma de zancos, que les permiten anclarse a suelos inestables y semillas flotantes para mayor dispersión (Bravo-Velásquez, 2014: pp.30).

1.2 Familia de *Myrtaceae*

La familia *Myrtaceae* está conformada por 140 géneros y 3000 especies ubicadas en zonas templadas, tropicales y subtropicales incluyen árboles, arbustos, miles de especies y una gran cantidad de híbridos y variedad de plantas ornamentales (Botánicos et al., 2012b: pp. 1). Los más conocidos en Sudáfrica son los árboles de “goma de mascar” o eucaliptos que se originaron en Australia (The Gardener, 2018). Mientras que en Ecuador existen 14 géneros nativos de los cuales 7 se localizan en bosques andinos y páramos (Ulloa y Maller, 2002).

De manera general las especies de la familia de *Myrtaceae* se consideran “vegetales leñosos subtropicales de follaje persistente, con cavidades secretoras lisígenas con esencias productoras de especia y sustancias medicinales, además muchas especies tienen frutos comestibles” (Botánicos et al., 2012a:p 3).

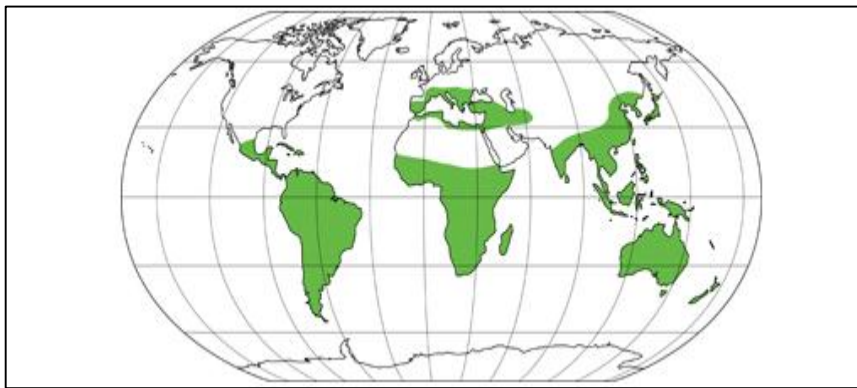


Figura 1-1: Distribución geográfica de la familia *Myrtaceae*.

Fuente:(UDELAR, 2017).

1.2.1 *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh



Figura 2-1: *Myrcianthes hallii*

Fuente:(Farfan et al., 2007)

Es una planta propia de la región Andina ecuatoriana, nombrada en el año 1856 como *Eugenia hallii* por el botánico alemán Otto Berg, actualmente el nombre científico reconocido por los investigadores es *Myrcianthes hallii* nombrada por McVaugh (Chávez Daquilema, 2016a:p 10). El “Arrayán” se localiza en jardines, bosques Andinos en alturas comprendidas entre 2500 a 3000 m.s.n.m , esta referencia esta descrita para Ecuador, Perú, Venezuela y posiblemente para Colombia (Guasgua, 2012:p 19).

1.2.2 Clasificación taxonómica

Tabla 1-1: Taxonomía de *Myrcianthes hallii*

Reino:	Plantae
División:	Fanerigame
Subdivisión:	Angiospermae
Clase:	Dicotyledonae
Orden:	<i>Myrtales</i>
Familia:	<i>Myrtaceae</i>
Género:	<i>Myrcianthes</i>
Especie:	<i>M. hallii</i>
Epítelo específico:	<i>Myrcianthes hallii</i>

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Fuente:(Chávez Daquilema, 2016b:p 11)

1.2.3 Descripción botánica

Especie arbórea que puede alcanzar hasta 7 m de altura, “corteza externa pardo-rojiza, que se desprende en láminas”. Las hojas son simples, opuestas, ovadas y coriáceas, con haz verde, oscuro brillante y envés más claro. Las flores poseen pétalos blancos y manchas rosadas en los botones; numerosos estambres cremosos. El fruto es una drupa negra-violeta cuando madura” (PNQ, 2017).

1.2.4 Componentes importantes

Las sustancias que se encuentran en mayor cantidad son: α - β pineno, cineol y mirtol, se identifican además diferentes flavonoides como quercetina, camferol, mircetina y dos glúcidos de miricetina (Chávez Daquilema, 2016c:p24).

1.2.5 Usos

Tabla 2-1: Usos de *Myrcianthes hallii*

Alimenticio	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Es fundamental en la elaboración de la colada morada, ya que las hojas frescas de <i>Myrcianthes hallii</i> brindan un sabor característico. ➤ En la industria cárnica sus hojas son útiles como saborizantes. ➤ En las provincias de: Bolívar, Carchi, Cotopaxi, Imbabura, y Pichincha sus hojas son utilizadas como un ingrediente en la preparación de chapuz, coladas y dulces de sambo.
Combustible	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Al tratarse de un árbol se puede obtener leña y carbón.
Materia prima	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Por sus características madereras son cotizadas en la elaboración artesanías, adornos y mueblería.
Medicinal	<p>Aunque a través del tiempo el arrayán se utilizaba más como un ingrediente, en los últimos años se ha observado que los pueblos también lo utilizan en:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Elaboración de aceites por poseer actividades antisépticas y desinfectantes, los cuales son aplicados en heridas para evitar infecciones. ➤ Evita la aparición de arrugas en la piel. ➤ Útil en el tratamiento de afecciones respiratorias gracias a su acción descongestionante. ➤ Sirven para combatir enfermedades como: infecciones pulmonares, infecciones urinarias, diarrea, parasitosis, problemas estomacales, enfermedades metabólicas, infecciones micóticas y bacterianas, hemorroides, acné y leucorrea. ➤ Los indígenas la utilizan para blanquear los dientes y preservarlos de las caries o para calmar el dolor de los pies. ➤ Para protegerse de la gripe la persona se baña y se toma la infusión de esta planta. ➤ Las mujeres luego del parto deben lavarse con la decocción de la planta.
Ambiental	<ul style="list-style-type: none"> ➤ En Azuay se siembra el arrayán como cerca viva con fines agroforestales debido a su capacidad de rebrote.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Fuente:(Jaramillo, 2013:p 23-24), (Rios et al.,2007:p433-434)

1.3 Actividades Biológicas comprobadas.

En la tesis presentada por Chávez (2016), se comprobó que los extractos hidroalcohólicos al 60% y 80 % de las hojas de *M. hallii* poseen actividad cicatrizante efectiva.

En estudios realizados sobre la caracterización química y actividad antibacteriana *in vitro* de *Myrcianthes hallii* se elucidaron 38 compuestos flavónicos en las hojas de la planta, la gran mayoría con actividad antibacteriana comprobada contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (Chavez Carvajal *et al.*, 2016).

El extracto alcohólico exhibe actividad antimicrobiana contra cepas de *S. aureus.*, *P. aeruginosa* , *S. pyogenes* y *Enterococcus spp.* debido a la presencia de diferentes polifenoles (Chavez Carvajal *et al.*, 2016).

1.4 La Inflamación

La inflamación es un proceso tisular que consta de una serie de eventos moleculares, celulares y vasculares que tienen como objetivo defender al organismo ante la presencia de agentes químicos, físicos y biológicos provenientes del exterior (Male et al., 1991, p. 317) (Bordès et al, 2010).

El proceso inflamatorio inicia con la focalización de la respuesta, que tiende a limitar la zona de lucha contra el agente extraño, la respuesta inflamatoria es inmediata e inespecífica, aunque posteriormente pueda desarrollarse una respuesta específica, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos y como respuesta a las alteraciones vasculares a través de la sangre van a llegar las moléculas inmunes (Male et al., 1991, p. 317) (Bordès et al, 2010).

La inflamación se caracteriza por la presencia de los cuatro signos de Celso: calor, rubor, tumor y dolor en el sitio inflamado; el calor y rubor se produce por la presencia de alteraciones vasculares que provocan una acumulación sanguínea en el foco inflamatorio, el tumor es resultado del acúmulo de células inmunes y el dolor es consecuencia de la acción de diversos mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor (Male et al., 1991, p. 317) (Bordès et al, 2010).

1.4.1 Clasificación de la Inflamación

La inflamación se clasifica de acuerdo al tiempo de duración, carácter del exudado, etiología localización y características morfológicas como se describe en la siguiente tabla:

Tabla 3-1: Clasificación de la Inflamación

CLASIFICACIÓN DE LA INFLAMACIÓN	
Por la duración	
Agudas	La respuesta frente al agente agresor es inmediata, tiene una corta duración.
Crónicas	La respuesta frente al agente agresor es prolongada, existe destrucción tisular, inflamación activa e intento de reparación.
Por el carácter del exudado	
Trasudado	Existe un ligero cambio en la permeabilidad vascular lo que ocasiona la presencia de líquido inflamatorio extravascular con bajo contenido proteico.
Exudado	Existe una alta permeabilidad en los vasos sanguíneos lo que produce la presencia de líquido inflamatorio extravascular con alto contenido proteico.
Por la etiología	
Infecciosas	Provocadas por bacterias, virus o parásitos.
Traumáticas	Causadas por golpes intensos con respuesta inmediata o tardía.
Térmicas	Ocasionas por quemaduras por calor o congelamiento.
Por exposición agentes químicos ambientales	Por contacto con sustancias corrosivas, reactivos químicos, metales pesados.
Necrosis tisular	Se produce por traumatismo, isquemia, agentes químicos entre otros.
Presencia de cuerpos extraños	Astillas, clavos, espinos, etc.
Inmunitarias	Respuesta a alérgenos comunes o procesos colagenopáticos.
Por sus características morfológicas	
Serosa	Presencia de líquido tisular de bajo contenido proteico.
Fibrinosa	Presencia de exudado con alto contenido de fibrinógeno.
Supurativa	Producción de exudados purulentos formados por leucocitos y células necróticas.
Abscesos	Presenta tejido inflamatorio purulento acompañado de necrosis licuefactiva.
Úlceras	Presencia de tejido necrótico inflamado.
Por su localización	
Focales	Producidas en zonas y órganos específicos. Ej.: faringitis, amigdalitis, cistitis.
Diseminados	Propagación de los procesos inflamatorios ya sea por metástasis, fistulización o por vía canicular.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Fuente: (Villalba, 2014, pp.5)

1.4.2 Fases del proceso inflamatorio

- **Liberación de mediadores.** Son moléculas liberadas por los mastocitos como respuesta a determinados estímulos (Bordés et al., 2010, p:1-4), (Mack, 2017:pp.7-10).
- **Efecto de los mediadores.** Las moléculas liberadas son responsables de la producción de efectos quimiotácticos y alteraciones vasculares que estimulan la llegada de células y moléculas inmunes a la zona inflamada (Bordés et al., 2010, p.1-4), (Xu y Larbi, 2017:pp.3).
- **Llegada de moléculas y células inmunes a la zona inflamada.** Procedentes del torrente sanguíneo y de las zonas cercanas al foco inflamatorio (Bordés et al., 2010, p.1-4), (Innes y Calder, 2018:pp.2-5).
- **Regulación del proceso inflamatorio.** El proceso inflamatorio integra varios mecanismos inhibidores que intervienen en la finalización o equilibrio del proceso (Bordés et al., 2010, p.1-4), (Reyna, 2009:pp.97-100).
- **Reparación.** Esta fase da lugar a la reparación total o parcial de los tejidos dañados por acción del agente agresor o como consecuencia de la respuesta inflamatoria (Bordés et al., 2010:pp.1-4), (Reyna, 2009:pp.97-100).

1.4.3 Liberación de mediadores

La lesión celular causada por el agente agresivo provocará la liberación de mediadores, estos compuestos acudirán a la zona inflamada y una vez que el proceso inflamatorio avanza, se acumulan en el foco. La cantidad suficiente de factores activados del complemento, el C3a y el C5a actúan sobre los receptores de membrana lo que va a inducir la activación del mastocito; esta es una célula inmune no específica procedente de la médula ósea que contiene en su citoplasma gránulos con mediadores de la inflamación preformados. Cuando se activan los mastocitos se libera en conjunto con otros de carácter lipídico sintetizados de novo. Los mastocitos se localizan principalmente alrededor de pequeños vasos sobre los que van a actuar los mediadores liberados (Ishizaka et al, 1984: pp.9-12).

1.4.4 Efecto de los mediadores

Mediadores preformados

- **Histamina.** Es un mediador distribuido por todo el organismo localizado principalmente en el mastocito y los basófilos, actúa sobre los receptores de la histamina H1 produciendo vasodilatación e incremento de la permeabilidad, mientras que al interactuar con los receptores H2 provoca la regulación e inhibición de la inflamación (Gallin et al, 1988, p. 345-350), (Mitchell, 2007:pp.30-32).
- **Enzimas proteolíticas.** La kininogenasa es la principal enzima producida por el mastocito, ejerce su acción proteolítica sobre los kininógenos que son proteínas procedentes de la sangre, ocasionando la ruptura en péptidos conocidos como kininas, las cuales van a producir vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular y estimulación de las terminaciones nerviosas del dolor (Gallin et al, 1988, p. 345-350), (Mitchell, 2007:pp.30-32).
- **Factores quimiotácticos.** El factor quimiotáctico eosinófilo de la anafilaxia (ECF-A) que incluye al menos dos tetrapéptidos ácidos (Turnbull et al., 1977, p.32) que tienen la capacidad de atraer los eosinófilos al foco inflamatorio y simultáneamente producen su activación (Gallin et al, 1988, p. 345-350), (Mitchell, 2007:pp.30-32).
- **Heparina.** Al inhibir la coagulación favorece la llegada de moléculas y células procedentes del torrente sanguíneo al foco inflamatorio (Gallin et al, 1988, p. 345-350).

Mediadores sintetizados de novo

- **Dinoprostona (PGE2).** Es la prostaglandina más importante dentro del proceso inflamatorio, su presencia ocasiona vasodilatación y dolor; además junto con el factor C5a y la LTB4 incrementa la permeabilidad vascular (Larsen y M.Henson 1983, p.344-353), (Torres, 2010:pp.20-28).

- **LTBA.** Es un factor quimiotáctico para mastocitos, neutrófilos, eosinófilos y macrófagos (Larsen y M.Henson 1983, p.344-353), (Torres, 2010:pp.20-28).
- **Factor activador de plaquetas (PAF).** Este factor cumple varios papeles dentro del proceso inflamatorio, da lugar a la activación de las plaquetas causando la liberación de mediadores dando comienzo a los procesos de coagulación, produce aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación y además es considerado un factor quimiotáctico activador de neutrófilos (Larsen y M.Henson 1983, p.344-353), (Torres, 2010:pp.20-28).

1.4.5 Llegada de mediadores al foco inflamatorio

La llegada de mediadores al foco inflamatorio va producir dos efectos: la fase inicial se producen alteraciones vasculares que facilitan la llegada de moléculas y células desde el torrente sanguíneo al foco inflamatorio, además de la formación de edema, en tanto que en una segunda fase las alteraciones vasculares y la liberación de factores quimiotácticos provocan la llegada de células inmunes procedentes de la sangre y tejidos circundantes (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002: pp. 12-16).

Fase inicial

Las moléculas que intervienen en esta fase son:

- **Inmunoglobulinas.** Los anticuerpos al unirse con el agente agresor van a bloquear su acción. La inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG) activan el complemento por la vía clásica. La IgG potencia la fagocitosis uniéndose a los receptores mediante la porción Fc (FcR) de los fagocitos (Larsen y M.Henson 1983: pp. 344-353), (Pisterna, 2006: pp.14-16).
- **Factores del complemento.** Además de la vía clásica existe una vía alternativa para la activación del complemento, la misma que inicia su actividad con la presencia de productos liberados por el agente agresor. Una vez que el complemento alcanza la vía común provoca la lisis del agente causal de la inflamación. Los factores C3a (activador

de la fagocitosis) y C5a (potente factor quimiotáctico) actúan sobre los receptores de membrana activando al mastocito y al basófilo produciendo la liberación de mediadores que van a intervenir en el proceso inflamatorio (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002: pp 12-16).

- **Kininógeno.** Su ruptura por acción de la enzima kininogenasa liberada tanto en el mastocito y en el basófilo da lugar a la formación de kininas que van estimular las terminaciones nerviosas del dolor (Pisterna, 2006: pp.14-16).
- **Proteínas de la fase aguda.** La más importante es la proteína C reactiva (PCR) que tiene la capacidad de fijar ciertas bacterias y activar el complemento por la vía clásica (Pisterna, 2006: pp.14-16), (González, 2007:pp.3).
- **Factores de coagulación.** La inhibición de la coagulación acelera la llegada de células y moléculas al foco inflamatorio (Pisterna, 2006: pp. 14-16), (González, 2007: pp. 3).

Fase tardía

Las células que intervienen en esta fase son:

- **Basófilos.** Junto con los mastocitos intervienen en la liberación de mediadores (Pisterna, 2006: pp.14-16), (González, 2007: pp. 3).
- **Neutrófilos.** Es una de las primeras células que llegan al foco inflamatorio, atacan al agente agresor mediante fagocitosis o con la producción de factores tóxicos provocan su muerte extracelular (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002: pp. 12-16).
- **Monocito.** Procedente de la sangre ocasiona los mismos efectos que un neutrófilo, además inicia la respuesta específica actuando como célula presentadora del antígeno a las células T y B (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002:pp 12-16).
- **Macrófago.** Procedente de los tejidos cercanos sintetiza la interleucina 1 (IL-1) un péptido inespecífico propio del sistema inmune que actúa sobre distintas partes del organismo provoca la aparición de fiebre, favorece la liberación de neutrófilos, activa la proliferación y diferenciación de células T y B colaborando así con la respuesta específica, también activa la proliferación de fibroblastos y formación de colágeno

elementos que van a intervenir en la reparación de la inflamación (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002:pp 12-16).

- **Linfocitos T y B.** Las células B sintetizan inmunoglobulinas E que al unirse con los mastocitos o basófilos son capaces de potenciar la inflamación. Mientras que las células T producen linfoquinas que alargan la inflamación en una respuesta inmune más elaborada. Ambos linfocitos inician la respuesta específica (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002:pp 12-16).
- **Eosinófilo.** Al parecer tiene un papel regulador en el proceso inflamatorio (Pisterna, 2006: pp.14-16), (Durán et al., 2002:pp 12-16), (Durán et al., 2002:pp 12-16).

1.4.6 Regulación de la respuesta inflamatoria

El fenómeno inflamatorio debe ser regulado para evitar una respuesta perjudicial o exagerada, varios mediadores pueden modificar su función y/o concentración para actuar sobre distintos receptores para producir inhibición, de esta manera se logra un equilibrio de la respuesta inflamatoria (Bordés et al., 2010: pp.4). Los factores encargados de la regulación se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4-1: Factores encargados de la regulación de la respuesta inflamatoria

Mediador	Acción reguladora
Histamina	Actúa sobre los receptores H2 induciendo en el mastocito y en el basófilo una inhibición de la liberación de mediadores, inhibe la actividad del neutrófilo y la quimiotaxis, además activa las células T supresoras.
Prostaglandina PGE	Produce en el mastocito y basófilo una inhibición de la liberación de mediadores y sobre los linfocitos una inhibición de la proliferación y diferenciación.
Heparina	Inhibe la coagulación y la activación de los factores del complemento
Eosinófilo	Esta célula, atraída por el ECF-A, acude al foco inflamatorio donde libera enzimas que degradan determinados mediadores potenciadores del proceso inflamatorio.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Fuente: (Bordés et al., 2010: p.1-4)

1.4.7 Reparación

Una vez que las causales de la agresión han sido eliminadas por acción de la respuesta inflamatoria se inician los procesos de reparación, los mismos que se encargan de la llegada de los fibroblastos a la zona para la proliferación y síntesis de colágeno, proliferación de células epiteliales y vasos dentro de la herida (Bordés et al., 2010 : pp. 1-4).

1.5 Tratamiento

1.5.1 Tratamiento Farmacológico

Los fármacos útiles en el tratamiento de la inflamación son los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y los glucocorticoides (Carranza, 2014: pp.79).

1.5.1.1 Antiinflamatorios no esteroideos

Los AINES son drogas de diferentes estructuras químicas con capacidad de inhibir la actividad de la COX (ciclooxigenasa), y reducir la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. Además se caracterizan por poseer actividades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias (Carranza, 2014: pp. 79-80).

Mecanismo de acción

A nivel periférico se basa en la inhibición de la ciclooxigenasa, impidiendo de esta forma paso de ácido araquidónico a endoperóxido PGG₂, disminuyendo así la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, lo que causa una reducción de la concentración tisular de compuestos capaces de estimular los nociceptores periféricos o también conocidos como receptores del dolor. En el sistema nervioso central la inhibición de la ciclooxigenasa desencadena una reducción en la formación de prostaglandinas en el cerebro y medula espinal disminuyendo procesos de sensibilización central (Rosas et al., 2008:pp. 469),(Ortiz et al.: pp.2007).

Se conocen dos isomorfos de la enzima ciclooxigenasa (Rosas et al., 2008:pp.469):

Tabla 5-1: Isoformas de la ciclooxigenasa (COX)

COX-1	Es una enzima constitutiva que se encuentra en la mayoría de los tejidos. Se encarga de regular procesos como la protección gástrica, agregación plaquetaria, función renal y la homeostasis vascular. Por tanto su inhibición puede provocar efectos secundarios a estos niveles.
COX-2	Habitualmente no se detecta en los tejidos y aparece de forma inducida en estados de inflamación. Su expresión se inhibe por todos los AINE y también por los corticoides. En estos casos, los llamados AINE selectivos, al inhibir preferentemente la COX-2, consiguen una acción antiinflamatoria sin los efectos secundarios, especialmente gástricos, al no inhibir la enzima COX-1.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Fuente: (Rosas et al., 2008:p 470-471)

Clasificación de los AINES

Tabla 6-1: Clasificación de los AINES según su estructura química.

Grupo Terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina.
Pirazolonas	Fenilbutazona.
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina.
Arilacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona.
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno.
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam.
Fenamatos	Ácido mefenámico, meclofenamato.
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Fuente: (Rosas et al., 2008:p 470)

Tabla 7-1: Clasificación de los AINES según vida media plasmática.

Analgésicos	Vida media corta (< 6 horas)	Vida media corta (> 6 horas)
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico, salsalato, acetilato de lisina.	Diflunisal, fosofosal.
Pirazolonas		Fenilbutazona.
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín.	Sulindaco.
Arilacéticos	Diclofenaco.	Aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno.	Naproxeno.
Oxicams y análogos		Piroxicam, tenoxicam, meloxicam.
Inhibidores selectivos de la COX-2		Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Fuente: (Rosas et al., 2008:p 470)

1.5.1.2 Glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas derivadas del cortisol o hidrocortisona que debido a actividad antiinflamatoria e inmunosupresora, se encuentran entre los fármacos más prescritos para varios trastornos autoinmunes, inflamatorios y alérgicos, como la artritis reumatoide, el lupus eritematoso, la enfermedad inflamatoria intestinal, el rechazo de trasplantes y el asma, a menudo se tratan con glucocorticoides sintéticos como la dexametasona y la prednisolona, sin embargo el uso terapéutico de glucocorticoides está limitado por la amplia gama de efectos secundarios que causan: osteoporosis, hiperglucemia, resistencia a la insulina, hipertensión y atrofia muscular (Vandewalle et al., 2018: pp. 1).

Mecanismo de acción

Los glucocorticoides se desplazan a través de la membrana celular, uniéndose a receptores citosólicos (GR α y GR β); dicho complejo fármaco-receptor se traslada hacia el núcleo donde se une a sitios específicos en el DNA, lo cual reprime la transcripción o induce la transcripción de genes específicos. La represión se lleva a cabo sobre varios factores de transcripción, entre ellos los genes de la COX, citocinas y óxido nítrico sintasa. De esta forma se logra la inhibición de la liberación de ácido araquidónico, disminución de la formación de citocinas IL-1 a IL-8, TNF- γ , factores de adhesión, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, reducen la generación de óxido nítrico, la liberación de histamina y la producción de IgG. Estos

mecanismos permiten la inhibición de la formación de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos los cuales son participes en el proceso inflamatorio (Carranza, 2014: pp. 80-81).

1.5.2 Tratamiento no farmacológico

El dolor produce efectos negativos sobre la calidad de vida y demás actividades en las que se desempeñan las personas, por lo tanto es necesario la utilización de terapias no farmacológicas que ayuden a la disminución de dolencias (Mercola, 2017).

Las terapias usadas en conjunto con medicamentos para aliviar el dolor se basan en métodos físicos los cuales se aplican en las zonas donde se encuentra la lesión como: calor, hielo, masajes, fisioterapia y electroestimulación. Además se utilizan técnicas de relajación, música, autohipnosis y acupuntura (Mercola, 2017).

Las plantas medicinales también son un aporte sustancial en el tratamiento contra la inflamación y el alivio del dolor. Las hierbas más representativas de este grupo son: cúrcuma, jengibre, limón, tomillo, albahaca, ajo, piña, aceite de linaza, ortiga blanca, lima, cardamomo, romero, salvia, menta, boldo, árnica y caléndula (Mercola, 2017).

1.6 Estudios sobre la actividad antiinflamatoria

Investigaciones *in vivo*

1.6.1 Edema Auricular inducido por TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol)

En el ensayo se usan ratones distribuidos en tres grupos que corresponden a; control negativo (TPA), positivo (antiinflamatorio) y extractos. Todas las aplicaciones se realizan en la oreja derecha del reactivo biológico.

Tabla 8-1: Aplicación de los tratamientos.

Grupo	
Control negativo	Solución TPA
Control positivo	Medicamento + Solución TPA
Extracto	Extracto + Solución TPA

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Fuente: (Matiz et al., 2007).

Transcurrido cuatro horas luego de la aplicación de los tratamientos, los reactivos biológicos deben ser sacrificados. Luego se retiran las secciones circulares de la oreja derecha (tratada) e izquierda (no tratada), las cuales deben ser pesadas respectivamente. La diferencia entre los pesos sirve para determinar el cambio debido a la inflamación (Matiz et al., 2007).

El porcentaje de inhibición de la inflamación se obtiene mediante la ecuación, donde I_c corresponde a la proporción de la inflamación media del grupo control e I_t a la proporción de la inflamación de cada animal en cada grupo tratamiento (Matiz et al., 2007).

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = \frac{I_c - I_t}{I_c} * 100$$

1.6.2 Edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata

Es un modelo ampliamente aceptado en investigaciones por poseer una sensibilidad óptima. El ensayo se basa en provocar un edema local mediante la administración subcutánea de carragenina en la región subplantar de la pata posterior de la rata. Gracias a los incrementos de volumen de la pata, a diferentes tiempos y comparando con los distintos grupos de tratamientos, se consigue conocer el grado de inhibición del edema en las ratas tratadas respecto a los controles, hecho que está relacionado con la acción antiinflamatoria (Risco, 2007:p 12-13).

1.6.3 Método de Whittle

La "prueba de retorcimiento" que hace que el método sea específico para analgésicos no narcóticos. La inyección intraperitoneal de ácido acético causa retorcimiento y un aumento en la permeabilidad capilar que se mide por estimación directa de colorante unido a plasma (Pontamine Sky Blue) que se ha filtrado en la cavidad peritoneal. Los analgésicos no narcóticos inhiben la agitación y la pérdida de colorante. Los analgésicos narcóticos, en dosis que producen analgesia inhiben la agitación pero no afectan de manera significativa la fuga de colorante. Las drogas que estimulan el sistema nervioso central y también inhiben la agitación no tienen un efecto significativo sobre la fuga de tinte en el rango de dosis que inhiben las agitaciones. Los corticosteroides no inhiben significativamente la agitación ni la pérdida de colorante (Whittle, 1964).

1.6.4 Método de cuantificación de eicosanoides mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Es una técnica útil para mediciones cuantitativas de eicosanoides sin la necesidad de recurrir a derivatizaciones previas ni al uso de anticuerpos o radioactividad. En farmacología, existen tres enzimas principales: la fosfolipasa A2, la lipoxigenasa y la ciclooxigenasa. Cuya actividad es importante en el fenómeno inflamatorio y que se pueden cuantificar mediante CLAR, puesto que sus productos de oxidación e isómeros presentan grupos cromóforos que pueden ser medibles a longitudes de onda de 235, 274 ò 280 nm (Fernández, 2008).

Investigaciones in vitro

1.6.5 Modelos de evaluación in vitro de la actividad antiinflamatoria

Los polimorfonucleares (PMN) poseen una función fundamental modulando la iniciación y persistencia de la respuesta inflamatoria. Es así que los macrófagos modulan dicha respuesta por su capacidad de sintetizar mediadores biológicos, como prostaglandinas. (Gómez Estrada et al., 2011: pp.187).

Las células fagocíticas como leucocitos y macrófagos responden a estímulos causados por la liberación extracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), a este proceso se denomina como estallido oxidativo provocado por el incremento en la recaptación de O₂ seguida por la reducción de un e⁻ de oxígeno a superóxido (O₂⁻) por medio del uso de nicotiamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) o la nicotin adenin dinucleótido (NADH) participando como el donante del e⁻, durante una reacción de destrucción por la oxidasa dependiente de NADPH. Los macrófagos modulan el proceso de la inflamación. (Gómez Estrada et al., 2011: pp.187).

1.6.6 Ensayos in vitro colorimétricos con sales de tetrazolio

El ensayo *in vitro* se inicia con un estallido mediado por los neutrófilos (granulocitos), medido espectrofotométricamente e histológicamente mediante el uso de sales de tetrazolio, el cual se disminuye intracelularmente a formazan soluble, reacción que es mediada por oxidasa dependiente de NADPH. Los ensayos realizados con WST-1 son métodos colorimétricos modificados que permite medir la reducción de sales de tetrazolio a compuestos de formazan soluble coloreados por succinato-tetrazolim reductasa en presencia de neutrófilos aislados

activados. Este método es destacado por presentar mayor sensibilidad debido a su solubilidad en comparación con otros métodos (Tan & Berridge, 2000: pp. 59-68), (Bermúdez, 2017: pp. 38).

1.7 Antioxidante

Se define como antioxidante a “una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor)” (Alomar, 2010: pp. 4). Los antioxidantes tienen una amplia gama de efectos positivos en la prevención de enfermedades (Sarangarajan et al., 2016: pp 1-2).

Los antioxidantes naturales que se producen en un organismo podrían luchar contra el estrés oxidativo que se produce a través de diversos procesos fisiológicos. Estos incluyen enzimas antioxidantes tales como catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reducido que son antioxidantes endógenos (Sarangarajan et al., 2016: pp. 2).

1.7.1 Radical libre

Son agentes oxidantes, causantes del envejecimiento al combinarse con moléculas esenciales, como el DNA y proteínas, a las cuales desactivan. Estos se forman a partir de moléculas estables por procesos de fisión homolítica y reacciones de transferencia de electrones. Se producen en el organismo continuamente por medio de reacciones bioquímicas redox (Alomar, 2010:pp. 4).

1.7.2 Capacidad captadora de radicales libres. Método DPPH'

El ensayo DPPH evalúa la capacidad antioxidante de una molécula al captar radicales libres, se considera como uno de los métodos colorimétricos estándar y fáciles para la evaluación de las propiedades antioxidantes de compuestos puros. DPPH' es un radical estable en solución y de color púrpura. (Mishra et al., 2012a: p.1038), (Yanza, 2017: pp. 36).

El ensayo se fundamenta en una reacción redox donde el DPPH' al aceptar un átomo de hidrógeno (H) a partir de la molécula captadora (antioxidante), da como resultado la reducción de DPPH' a DPPH₂, provocando un cambio de coloración que va del color púrpura a amarillo con una marcada disminución en la absorbancia a 515 nm. (Mishra et al., 2012b: pp.1038), (Yanza, 2017: pp. 36).

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de investigación

La investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Laboratorio de Productos Naturales.

2.2 Recolección del material vegetal

El material vegetal fue recolectado en noviembre 2017, en el cantón Licto, provincia de Chimborazo, a 2754 m.s.n.m.

Las coordenadas geográficas fueron:

- ✓ Latitud: 1°45'48.4" S
- ✓ Longitud: 78°36'28.9" O

2.3 Identificación del Material Vegetal

La muestra vegetal recolectada fue analizada e identificada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato campus Queracocha, por el Ing. Pedro Pablo Pomboza Tamaquiza PhD coordinador de investigación de dicha facultad.

2.4 Material vegetal

Se trabajó con el extracto hidroalcohólico de hojas de *Myrcianthes hallii*.

2.5 Equipos y reactivos

2.5.1 Equipos

Tabla 1-2. Equipos utilizados para el ensayo antiinflamatorio

Proceso	Equipos
Molienda y secado de la planta	<ul style="list-style-type: none">❖ Estufa (Marca Memmert)❖ Molino (Marca Thomas Co)
Tamizaje fitoquímico	<ul style="list-style-type: none">❖ Sonicador (Marca Branson 2510)❖ Balanza (Marca Radwag)
Control de calidad	<ul style="list-style-type: none">❖ Desecador❖ Estufa (Marca Memmert)❖ Mufla (IVYMEN N-8LITROS 1100°C)❖ Sonicador (Marca Branson 2510)❖ pHmetro (Marca SPER SCIENTIFIC)❖ Picnómetro❖ Refractómetro
Obtención del extracto liofilizado	<ul style="list-style-type: none">❖ Rotavapor (Marca BUCHI R110 & B-465 Water Bath)❖ Liofilizador (Marca Thermo)❖ Congelador (Marca GE Prolife)
Ensayo antiinflamatorio y antioxidante	<ul style="list-style-type: none">❖ Microscopio❖ Cámara de Neubauer❖ Centrífuga (Marca DYNAC™)❖ Lector de microplacas❖ Espectrofotómetro (Marca Cole-Palmer)

Elaborado por: Gabriel Mirallas, 2018.

2.5.2 Reactivos

Tabla 2-2. Reactivos utilizados para el desarrollo de los ensayos

Procesos	Reactivos
Tamizaje fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Agua destilada ➤ Ácido clorhídrico ➤ Cloruro de sodio ➤ Reactivo de Drangendorff ➤ Reactivo de Mayer ➤ Reactivo de Wagner ➤ Alcohol ➤ Reactivo de Baljet ➤ Cloroformo ➤ Hidróxido de sodio 5% ➤ Anhídrido acético ➤ Ácido sulfúrico ➤ Fehling A ➤ Fehling B ➤ Tricloruro férrico 5% ➤ Cloruro de sodio 0,9 % ➤ Magnesio metálico ➤ Alcohol amílico ➤ Éter-Etanol
Control de calidad	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ácido clorhídrico 10% ➤ Ácido nítrico ➤ Peróxido de hidrogeno ➤ Nitrato de amonio 10%
Ensayo antiinflamatorio y antioxidante	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sangre ➤ Heparina ➤ Solución modificada de Hanks ➤ Reactivo de Turk ➤ Dimetilsulfoxido 5% ➤ Triton X 100 0,1% ➤ Ficol ➤ Cloruro de amonio 0,85% ➤ Zymosan A ozonizado ➤ WST-1 ➤ DPPH*

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

2.6 Técnicas y métodos

La metodología que se empleó para realizar el control de calidad, tamizaje fitoquímico, cuantificación de fenoles totales, cuantificación de flavonoides totales, ensayo antiinflamatorio y antioxidante se menciona en la figura 1-2.

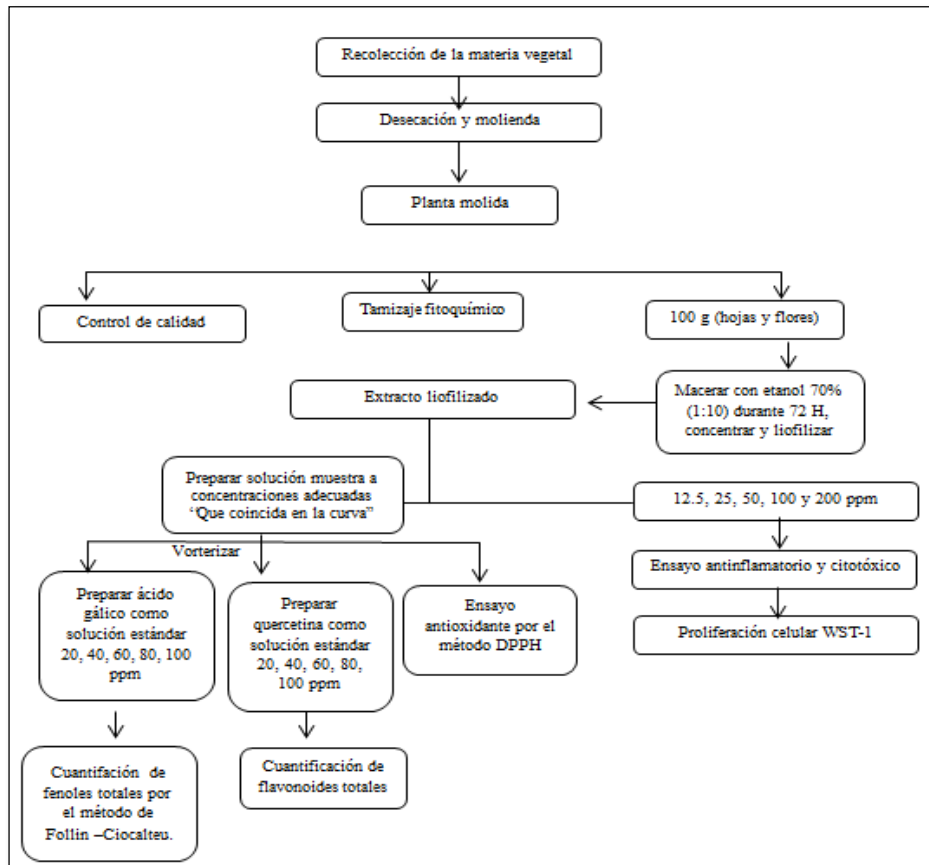


Figura 1-2. Protocolo de investigación

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

2.6.1 Secado y molienda de la materia vegetal

2.6.1.1 Secado

Las hojas de *Myrcianthes hallii* fueron seleccionadas, lavadas y secadas a una temperatura de 50 ° C en una estufa de aire caliente.



Figura 2-2. Secado de la planta

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

2.6.1.2 Molienda

Para el proceso de trituración del material vegetal se utilizó el molino de cuchilla giratoria, con el cual se obtuvo trazas de 2 a 3 mm de espesor, dimensiones óptimas para la realización de los ensayos de control de calidad, tamizaje fitoquímico, cuantificación de fenoles totales, cuantificación de flavonoides totales, ensayo antiinflamatorio y antioxidante.



Figura 3-2. Molienda de la materia vegetal.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

2.6.2 Control de calidad

2.6.2.1 Determinación de cenizas totales

Se pesó 2g de muestra vegetal en un crisol previamente tarado, se calentó en un reverbero hasta carbonización, posteriormente se incineró en una mufla a 700 °C durante 2 horas, se enfrió el

crisol en un desecador y se pesó (Se repitió este procedimiento hasta obtener un masa constante).(Miranda, 2006a: p.27)

Cálculo:

$$\%C = \left[\frac{m_1 - m}{m_2 - m} \right] * 100$$

En donde:

%C = contenido de cenizas en porcentaje de masa

m = masa del crisol vacío en g

m₁ = masa del crisol con la muestra después de la incineración en g

m₂ = masa del crisol con la muestra antes de la incineración en g



Figura 4-2. Cenizas totales

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

2.6.2.2 Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas obtenidas a partir de las cenizas totales, se añadió 15 mL de agua destilada y se calentó a una temperatura de 60°C durante 5 min. Posteriormente, la muestra se filtró y se carbonizó en un reverbero para proceder a incinerar en la mufla a una temperatura de 700°C durante 2h. (Se repitió el procedimiento hasta obtener una masa constante). (Miranda, 2006b: p.27)

Cálculo:

$$\%Ca = \left[\frac{m_1 - m_a}{m_2 - m} \right] * 100$$

En donde:

%Ca = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

m = masa del crisol vacío en g

m_a = masa del crisol con la ceniza insoluble en agua en g

m_1 = masa del crisol con la muestra en g

m_2 = masa del crisol con la ceniza total en g

2.6.2.3 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Las cenizas obtenidas de las cenizas totales se colocaron en un crisol, al cual se añadió 2 mL de ácido clorhídrico al 10%, se tapó el crisol con un vidrio reloj y se procedió a calentar durante 10 min en un reverbero. Se lavó el material de vidrio con 5 mL de agua caliente para retirar los residuos depositados en las paredes, el contenido se unió a la muestra del crisol. Se filtró el contenido del crisol, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico (se añadió 2 gotas de nitrato de plata 0,1 mol/L) no presente cloruros. El filtrado con el residuo se desecó a 105°C y se transfirió al crisol inicial para ser incinerado en una mufla a 700 ° C durante 2 h. Finalmente se transfirió a un desecador hasta que se enfrió (Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante). (Miranda, 2006c: p.28)

Cálculo:

$$\%B = \left[\frac{m_2 - m_1}{m} \right] * 100$$

En donde:

B = Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

m = muestra utilizada en g

m_1 = masa del crisol con la muestra en g

m_2 = masa del crisol con la ceniza insoluble en ácido clorhídrico en g

2.6.2.4 Determinación del contenido de humedad (Método gravimétrico)

Se pesó 2 g de muestra molida y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada a 105 °C (desecada hasta masa constante). Posteriormente se desecó durante 3 h, se enfrió la cápsula con la muestra en el desecador y se pesó. Se colocó nuevamente el crisol en la estufa durante 1h, se retiró para ser pesado. (Se repitió el procedimiento hasta mantener una masa constante). (Miranda, 2006d: p.28)

Cálculo

$$\%SS = \left[\frac{m_2 - m_1}{m_2 - m} \right] * 100$$

En donde:

SS= sustancia seca en porcentaje en masa.

m = masa de la cápsula vacía en g

m₁= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada en g

m₂= masa de la cápsula con la muestra en g

2.6.3 Tamizaje fitoquímico

Consiste en una serie de pruebas para determinar de manera cualitativa los principales grupos químicos presentes en las plantas. El proceso se basa en la maceración con solventes de polaridad creciente para garantizar la máxima extracción de los compuestos.

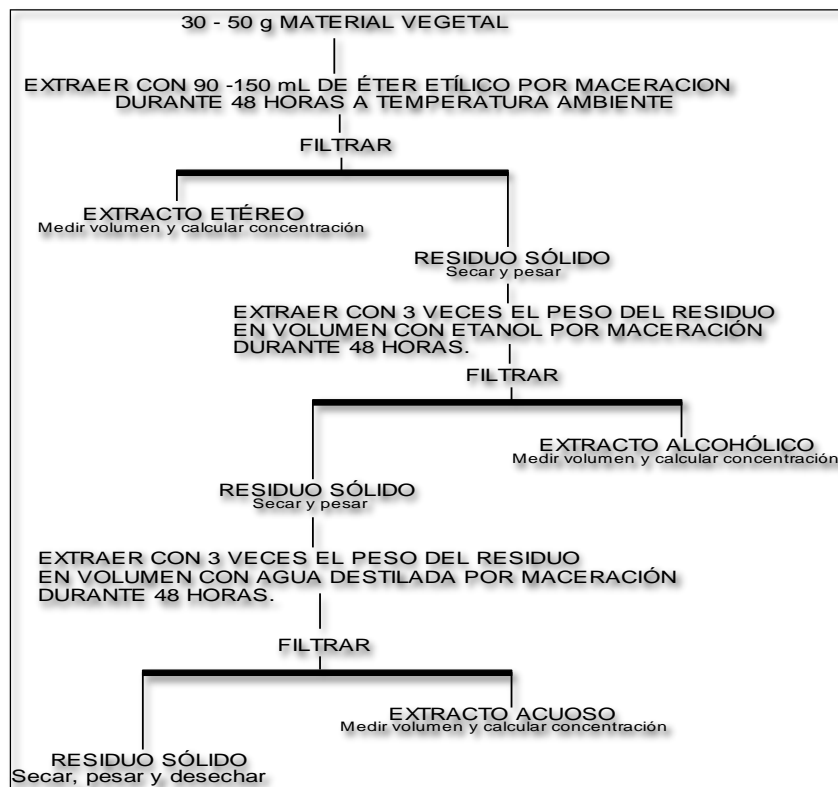


Figura 5-2. Protocolo de obtención de extractos

Fuente: (Miranda, 2006e: p.32)

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Con los extractos obtenidos (Figura 5-2) se realizó ensayos y pruebas para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en la planta, basándose en la observación de los cambios de color y formación de precipitados. Las reacciones llevadas a cabo en cada uno de los extractos se exponen a continuación.

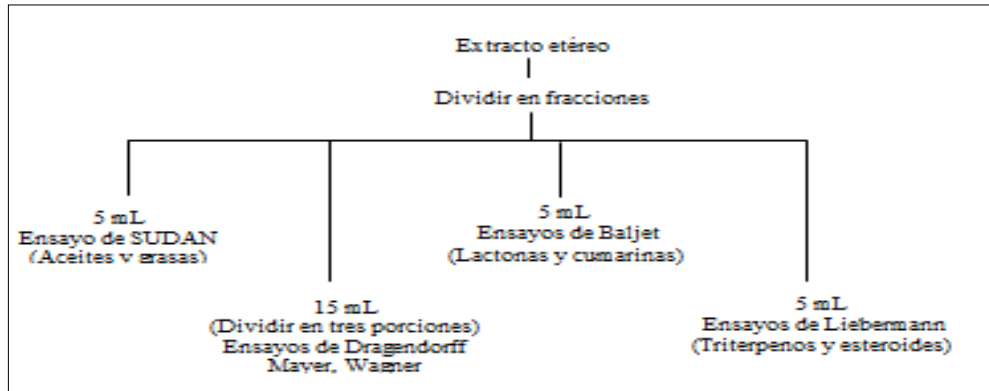


Figura 6-2 Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto etéreo.

Fuente: (Miranda, 2006f: pp.34-37)

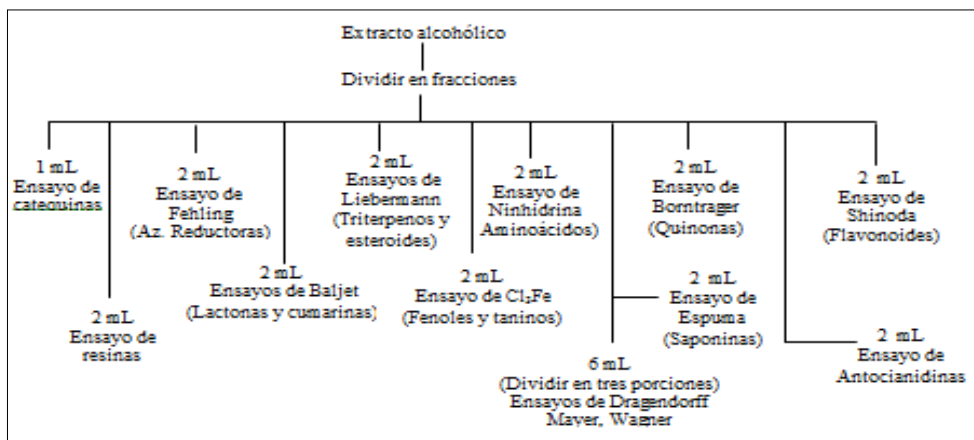


Figura 7-2 Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto alcohólico.

Fuente: (Miranda, 2006g: pp.34-37)

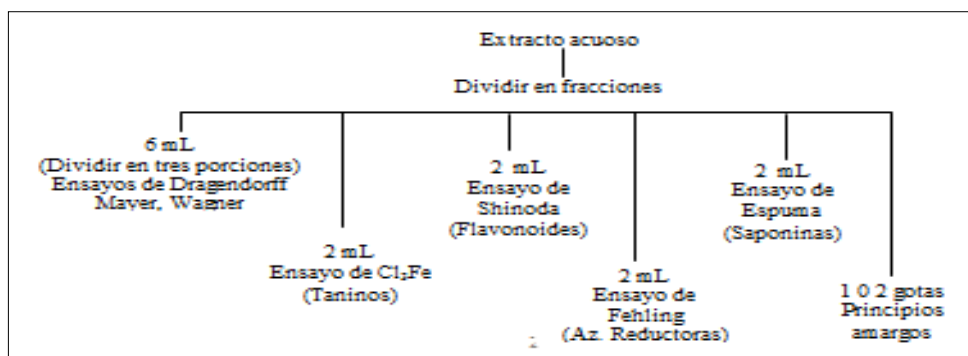


Figura 8-2 Protocolo para la realización del tamizaje fitoquímico de extracto acuoso.

Fuente: (Miranda, 2006h: pp.34-37)

2.6.4 Obtención del extracto hidroalcohólico

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se pesó y se colocó 100 g de planta con 1000 mL de etanol al 70% (1:10), se dejó macerar durante 72 h en un envase de color ámbar, posteriormente el contenido se sónico durante 1h y se filtró el contenido al vacío.



Figura 9-2 Extracto hidroalcohólico

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

El filtrado fue utilizado para la determinación de los parámetros de calidad como se detallan a continuación:

2.6.4.1 Determinación de los requisitos organolépticos

Se determinó el aspecto, color, olor y sabor del extracto.

- ❖ **Determinación de olor:** Se tomó una tira de papel y se introdujo en los extractos, se procedió a percibir el olor para determinar si pertenece a las características propias del extracto obtenido. (Miranda, 2006g: p.27)
- ❖ **Determinación de color:** En un tubo de ensayo completamente seco y limpio se trasvasó las muestras de ensayo (extracto de hojas), hasta las $\frac{3}{4}$ partes y se observó el color, la transparencia y si era el caso la separación de capas. (Miranda, 2006h: p.27)

2.6.4.2 *Determinación de densidad relativa*

Se pesó un picnómetro vacío y seco, posteriormente se llenó el picnómetro con el extracto y se introdujo en una estufa a 25°C durante 15 min. Transcurrido ese tiempo se enfrió y se pesó cuidadosamente el picnómetro con la muestra. (Miranda, 2006i: p.37)

Se repitió el mismo procedimiento usando agua destilada.

Cálculo:

$$\%D_{25} = \left[\frac{m_1 - m}{m_2 - m} \right] * 100$$

En donde:

D_{25} = Densidad relativa

m = masa del picnómetro vacío en g

m_1 = masa del picnómetro con la muestra en g

m_2 = masa del picnómetro con el agua en g

2.6.4.3 *Determinación del índice de refracción*

Se colocó una gota de la muestra de análisis sobre el prisma de medición, se enfocó la luz moviendo el compensador cromático hasta lograr obtener la intersección entre los campos claro y oscuro. (Miranda, 2006j: p.37)

2.6.4.4 *Determinación del pH*

Se ajustó el pHmetro con las soluciones buffer reguladoras y se procedió a medir el pH.

Sobre la muestra a analizar se introdujo el pHmetro

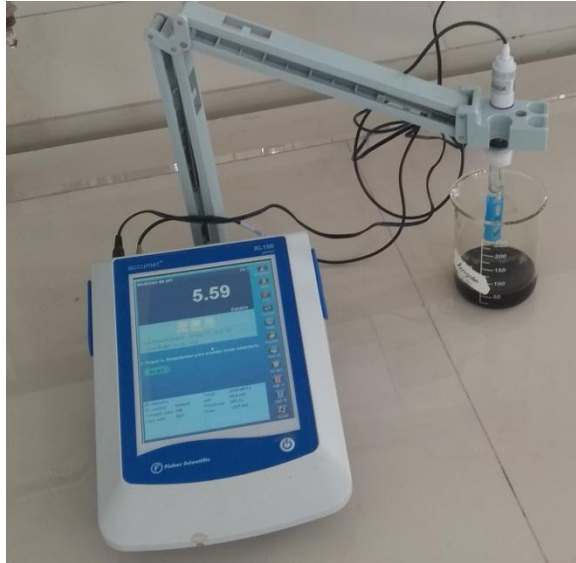


Figura 10-2 Determinación de pH

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

2.6.4.5 Determinación de sólidos totales

En una cápsula de porcelana previamente tarada, se añadió 5 mL del extracto alcohólico, se evaporó el contenido de la capsula en baño de agua hasta que el residuo este aparentemente seco. Se pasa a una estufa hasta que alcance un peso constante (Miranda, 2006k: p.38).



Figura 11-2. Sólidos totales.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Cálculo:

$$\%St = \left[\frac{Pr - P}{V} \right]$$

En donde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo en g

P = masa de la cápsula vacía en g

V = volumen de la porción de ensayo en mL.

2.6.5 Obtención del extracto liofilizado

Del extracto hidroalcohólico obtenido anteriormente, este se procedió a concentrar en el rotavapor a una temperatura de 50 °C, el concentrado se filtró, se congeló con nitrógeno líquido en el vaso de liofilización (el congelado se lo hizo de tal manera que el extracto quede por las paredes del vaso para obtener un buen liofilizado) y se colocó en el Liofilizador.

Nota: Se debía mantener la muestra congelada hasta que el extracto este completamente seco.



Figura 12-2 Extractos liofilizados.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

2.6.6 Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales es una técnica basada en el método de Folin-Ciocalteu, se fundamenta en una reacción redox, donde los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu de color amarillo que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es medida a 765 nm. (Alhakmani et al., 2013a: p.625)

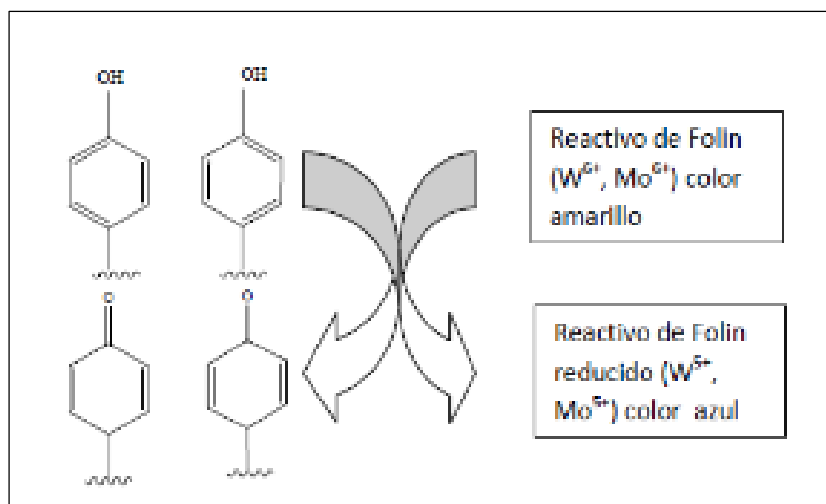


Figura 13-2. Fundamento de la reacción de Folin Ciocalteu

Fuente: (Alhakmani et al., 2013b: p.625)

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico por cada 100 g de extracto liofilizado.

2.6.7 Cuantificación de flavonoides totales

El catión de aluminio forma complejos estables con flavonoides en etanol, que se producen en el análisis espectrofotométrico un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. Así, es posible determinar la cantidad de flavonoides, evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas, especialmente ácidos fenólicos, que invariablemente acompañan a los flavonoides en los tejidos vegetales (Amaya & Portillo 2013a, p.53).

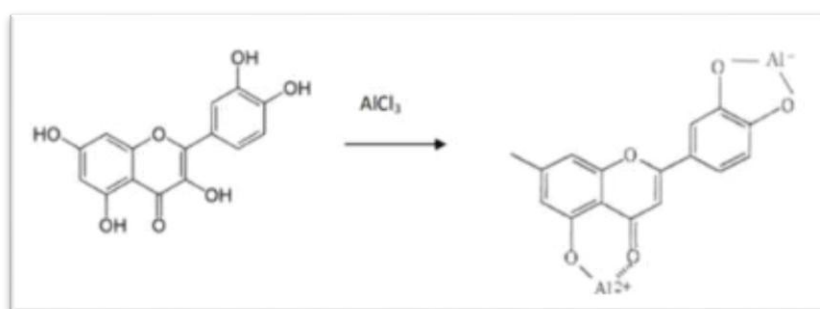


Figura 14-2. Fundamento de la reacción de Tricloruro de Aluminio

Fuente: (Amaya & Portillo 2013a, p.53)

Elaborado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Se preparó como solución estándar quercetina a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm en metanol, para la realización de la curva de calibración. Posteriormente se preparó las soluciones

problema (extracto liofilizado de Hojas) a una concentración de 100 ppm en etanol al 70%, y se midió la absorbancia a 510nm.

2.6.8 Ensayo antioxidante por el método DPPH'

Para evaluar la actividad antioxidante de compuestos o extractos específicos, estos últimos pueden reaccionar con un radical estable, 2,2-difenilpicrilhidrazilo (DPPH °) en una solución de metanol. La reducción de DPPH ° se controla por la disminución de su absorbancia a una longitud de onda característica durante la reacción. En su forma radical, DPPH ° absorbe a 515 nm, pero tras la reducción por un antioxidante (AH) o una especie radical (Re), la absorción desaparece (Cuvelier & Berset 1995a: pp.28).

Se prepararon soluciones de muestra a concentraciones de 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm para hojas, (el diluyente fue metanol); 6,9 mg de DPPH' se diluyeron en un volumen de 250 mL con metanol. (La absorbancia de esta solución debía oscilar entre 0,6 a 0,8 por lo que se esperó hasta que se estabilice y alcance la absorbancia adecuada para la realización de ensayo (Cuvelier & Berset, 1995b: pp.28).

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia del control positivo (DPPH')} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia del control positivo (DPPH')}} \times 100$$

2.6.9 Ensayo Antiinflamatorio

El ensayo antiinflamatorio se realizó siguiendo la metodología expuesta por (Choudhary & Jalil 2005; p.23-48), la cual se fundamenta en la reducción de la sal de tetrazolio (WST-1), altamente soluble en agua en presencia de neutrófilos aislados (1×10^4 neutrófilos /mL), cuyo resultado fue expresado como porcentaje de inhibición inflamatoria.

$$\% \text{ Inhibición} = \left(100 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia del control positivo (DMSO)}} \right) \times 100$$

2.6.10 Análisis estadístico

Los resultados de esta investigación fueron tabulados en el sistema estadístico SPSS y Excel. Se realizó un análisis factorial y el test Anova para el ensayo antiinflamatorio.

CAPITULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Control de calidad de la droga cruda de hojas *Myrcianthes hallii*

Los resultados referentes al control de calidad de la droga cruda de *Myrcianthes hallii* se expresan en la tabla 1-3.

Tabla 1-3. Resultados de parámetros de calidad

Parámetro	Hojas de <i>Myrcianthes hallii</i> (%)	Especificaciones USP #28
Humedad	7,70 ± 0,12	7-14%
Cenizas totales	8,85 ± 0,13	Hasta 12%
Cenizas solubles en agua	7,23 ± 0,05	Hasta 7%
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	1,62 ± 0,04	Hasta 5%

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

De la tabla 1-3, se observa que el contenido de humedad de las hojas de *M. hallii* se encuentra dentro del rango permitido, el valor de 7,70% evita la proliferación de microorganismos en el material vegetal. Sin embargo, Chávez (2016:pp.38) reportó para la misma especie un contenido de humedad ligeramente más alto de 9,84%. La diferencia en ambas especies se puede deber a dos aspectos importantes como es: el lugar de donde se recolectó la materia vegetal y la época del año, que para el caso de la presente investigación fue recolectado en noviembre 2017 en el cantón Licto, provincia de Chimborazo y para el caso de Chávez (2016:pp.38) la recolección se realizó en el cantón Guamote, provincia de Chimborazo, el mes es desconocido. Para ambos casos los suelos son de textura arenoso o franco arenoso, con bajos contenidos de materia orgánica y deficiente retención de humedad por lo que son clasificados taxonómicamente como: *DUROSTOLLS* (Ecuador, 2017).

Las cenizas totales representan el contenido de sales como fosfatos, carbonatos, nitritos, etc., las cenizas solubles en agua son un indicativo del contenido de metales pesados que pudo absorber

la planta, y las insolubles en ácido clorhídrico pueden representar a salicilatos provenientes de arena y tierra silíceas (WHO. 1998, pp. 29).

Los resultados para cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico fueron: 8,85%, 7,23%, 1,62% respectivamente. Valores que se encuentran dentro de las especificaciones según la USP #28, avalando que la recolección, limpieza, secado y almacenamiento de la planta fue realizado correctamente, y de esta forma se garantiza los resultados de los ensayos siguientes.

3.2 Análisis cualitativo

3.2.1 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico de las hojas de *M. hallii*, se realizó en base a lo señalado en las Normas Ramales de drogas crudas, extractos y tinturas (Miranda, 2006n, pp. 3864), para lo cual se empleó distintos solventes como: éter, etanol y agua. Los resultados obtenidos se expresan en la siguiente tabla:

Tabla 2-3. Resultados del tamizaje fitoquímico de hojas de *Myrcianthes hallii*

Ensayo a realizar	Compuesto a identificar	Extracto etéreo	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Dragendorff	Alcaloides	(++)	(+++)	(++)
Mayer	Alcaloides	(-)	(+++)	(++)
Wagner	Alcaloides	(+)	(+++)	(++)
Sudan	Compuestos grasos	(+)	N/A	N/A
Baljet	Lactonas (Cumarinas)	(-)	(++)	N/A
Liebermand – Buchard	Triterpenos y/o esteroides	(+)Verde oscuro negro final	(-)	N/A
Catequinas	Catequinas	N/A	(+)	N/A
Resinas	Resinas	N/A	(-)	N/A
Fehling	Azúcares reductoras	N/A	(++)	(++)
Espumas	Saponinas	N/A	(+)	(-)
Tricloruro férrico	Fenoles y taninos	N/A	(+++)color verde intenso	(++)Azul
Borntrager	Quinonas	N/A	(-)	N/A
Shinoda	Flavonoides	N/A	(++)color rojo	(++) color rojo
Antocianinas	Flavonoides	N/A	(++)	N/A
Mucilagos	Polisacáridos	N/A	N/A	(-) Gelatinoso
Principios amargos	Principios amargos y astringentes	N/A	N/A	(++) Ligeramente astringente

(N/A) No aplica, (-) Ausencia, (+) Escaso, (++) Mediadamente abundante, (+++) Abundante

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Los ensayos de Dragendorff, Wagner y Mayer permitieron identificar alcaloides en el extracto etanólico y acuoso coincidiendo con los resultados presentados en Chávez (2016:pp.38). Estos ensayos podrían evidenciar la presencia de alcaloides con nitrógeno cuaternarios o amino-óxidos libres. Cabe aclarar que el ensayo de Mayer solo permite una caracterización no específica de alcaloides (Rios, 2016). No existen datos respecto al extracto etéreo de *M. hallii*.

El ensayo de Baljet evidencia la presencia de estructuras con grupo funcional lactona. Únicamente el extracto etanólico dio positivo para este tipo de compuestos orgánicos. Este resultado se puede deber a la compatibilidad entre la polaridad que presentan estas sustancias y el contenido alcohólico, por tanto pudieron ser extraídas e identificadas mediante el ensayo.

El ensayo de catequinas da evidencia de un subgrupo de flavonoides, los flavan-3-oles (Kricun 2011a, pp. 249-255). En el extracto etanólico se observó evidencia escasa de este tipo de metabolito, resultados comparables con investigaciones previas (2016:pp38) (Chavez Carvajal et al., 2016). Por lo que el extracto hidroalcohólico de *M. hallii* podría contener trazas de compuesto de tipo catequina , galato de epicatequina , epigalocatequina , galato de epigalocatequina , proantocianidinas , teaflavinas , tearubiginas (Rosas, 2008).

El ensayo de Fehling confirmó la presencia de azúcares reductores en el extracto etanólico y acuoso de las hojas de *Myrcianthes hallii* el resultado concuerda con los datos obtenidos en el estudio realizado por Chávez (Chavez Carvajal et al., 2016) . Este tipo de azúcares son mono- y oligosacáridos que contienen un grupo aldehídico o cetónico libre que presenta un efecto reductor sobre ciertos agentes oxidantes (Moreno, 2016).

El ensayo de cloruro férrico permite evidenciar la existencia de fenoles y taninos. En la presente investigación dio positivo lo que coincide con estudios previos de la composición de *Myrcianthes hallii* en el cual se reportó la presencia de ácido quínico, que es un flavonoide polifenólico con actividad antiinflamatoria y antioxidante (Jang et al., 2017) (Chavez Carvajal et al., 2016), taninos (Chavez Carvajal et al., 2016) como: el punicafolin que posee efectos supresores de tumores (Tanaka, 1985), el hexahidroxifenol-D-glucosa que posee actividades antiinflamatorias (Zhao et al., 2008), (Chavez Carvajal et al., 2016), y las procianidinas que ayudan a regular enfermedades metabólicas (Freitas et al., 1998).

La prueba de Shinoda indica la presencia de flavonoides, el extracto etanólico de *M.hallii* resulto positivo, coincidiendo con otros estudios (Chavez Carvajal et al., 2016) (2016:pp.38) en los

cuales se menciona la presencia de compuestos tipo: mircetina potente antioxidante (Devi et al., 2015), quercetina antiinflamatorio y antioxidante. Los compuestos flavónicos son útiles en el tratamiento de enfermedades crónicas y neurodegenerativas (Lesjak et al., 2018). De la misma familia Mirtaceae, otras especies como *Myrcianthes rhopaloides* también presenta flavonoides, *Eugenia jambolana* en la purificación del extracto puro de las frutas presento compuestos como tricetin-4'-O- α -1-ramnopiranosido y mircetina (Dametto et al., 2017).

Para la prueba de Antocianidina, el resultado obtenido fue positivo, concordando con las investigaciones de Borges (Leonardo Borges et al., 2014), en el cual se menciona que plantas del género *Myrciaria* pertenece a la familia *Myrtaceae* presentan antocianinas (glucósido de las antocinidinas), los ensayos se realizaron en extractos hidroalcohólico de hojas y cortezas. Las antocianidinas están estrechamente ligadas a inhibir las vías de la ciclooxigenasa y de la lipooxigenasa, disminuyendo los niveles de prostaglandinas y leucotrienos los cuales son mediadores de inflamación, además posee una actividad antioxidante cuyo efecto de anular los radicales libres, es de 15 a 20 veces mayor que la vitamina E (Skibsted, 2018) (SaludBio, 2017).

Para el ensayo de espuma, el resultado fue positivo y es comparable con lo obtenido en la tesis de Chávez (2016:pp.38). En el extracto etéreo se realizó el ensayo de Libermann Burchard, dando resultado positivo pero escaso para la presencia de triterpenos y esteroides, resultado que concuerda con los datos de Chávez (2016:pp.38).

En las hojas de *M. hallii* no se evidenció la presencia de compuestos grasos, quinonas, mucílagos, estos datos no pueden comparados ya que no existen investigaciones anteriores.

3.3 Parámetros de calidad del extracto

Tabla 3-3. Parámetros de calidad del extracto de hojas de *Myrcianthes hallii*.

Parámetro		Resultado de hojas
Requisitos organolépticos	Aspecto	Opalescente
	Color	Verde oscuro
	Olor	Alcohólico
	Sabor	Amargo, ligeramente astringente
Densidad relativa		0,94 ± 0,02
Índice de refracción		1,368
pH		5,67
Sólidos totales		1,62 ± 0,03

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

En la tabla 3-3, se observan los parámetros organolépticos del extracto hidroalcohólico, determinados por las características propias de las hojas de *Myrcianthes hallii* y el solvente usado.

La densidad relativa para el extracto hidroalcohólico de las hojas fue de $0,94 \pm 0,02$, mientras que la densidad relativa del solvente usado (etanol al 70%) fue de 0,68, un valor mayor para el extracto presumiblemente pueda deberse a la presencia de metabolitos disueltos, debido a que en el extracto los compuestos podrían estar formando puentes de hidrógeno.

El índice de refracción fue de 1,368 para hojas, mientras que el índice de refracción del agua es de 1, esta diferencia de 0,368 a favor del extracto de *M. hallii* demuestra la existencia de sustancias diluidas en el extracto.

El resultado para sólidos totales de las hojas fue de $1,62 \pm 0,03$, lo que permite considerar que los metabolitos secundarios puedan ser extraídos con el solvente, el valor obtenido no se puede comparar puesto que no se encuentra con suficiente información bibliográfica.

El valor de pH para las hojas fue de 5,67, lo que revela que el extracto tiende a ser ligeramente ácido. El carácter ácido podría deberse a los compuestos que tienden a ser extraídos como flavonoides, fenoles, taninos, entre otros (Dehesa, 2011 p: 142-143).

3.4 Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles se realizó por espectrofotometría mediante el método de Folin – Ciocalteu, para lo cual se elaboró una curva de calibración de ácido gálico a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm obteniéndose la siguiente ecuación de la recta $A = 0,001C + 0,0017$ ($R^2 = 0,999$).

Para calcular la concentración de fenoles totales en el extracto liofilizado se sustituyó el valor de la absorbancia obtenida espectrofotométricamente a 100ppm (extracto liofilizado de hojas), los resultados fueron expresados en mg Eq GAE/100 g de extracto liofilizado.

Tabla 4-3. Cuantificación de fenoles totales por espectrofotometría.

Muestra analizada	Fenoles Totales	
	mg Eq GAE/100g de Extracto liofilizado	Porcentaje (%)
Hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	4563,333 ± 57,735	45,63 ± 0,577

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Tabla 5-3. Concentración de fenoles totales en extractos hidroalcohólicos de diferentes especies vegetales.

Especie	Concentración	Parte usada
<i>Myrcianthes pungens</i>	2061,63 ± 12,86 mg Eq GAE/100 g.	Fruto
<i>Eugenia leitonii</i>	158,74 ± 3,5 mg Eq GAE/100 g	Semillas.
<i>Eugenia brasiliensis</i>	389,88 ± 3,48 mg Eq GAE/100 g	Pulpa.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Fuente: (Seraglio et al., 2018), (Lazarini et al., 2016).

De la tabla 4-3 y la tabla 5-3, se observa que la concentración de fenoles totales para las hojas de *M. hallii* es mayor que los valores obtenidos para *Myrcianthes pungens* (Seraglio et al., 2018), *Eugenia leitonii* y *Eugenia brasiliensis* (Lazarini et al., 2016). La presencia de este tipo de compuestos es de gran importancia ya que cumplen un papel esencial como agentes antioxidantes, protegiendo a las células de daños oxidativos, de tal manera que limita el riesgo

de padecer enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causados por radicales libres (Gutiérrez et al., 2008:pp. 2).

3.5 Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó espectrofotométricamente mediante el método de tricloruro de aluminio, para lo cual se elaboró una curva de calibración con estándar de quercetina a diferentes concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y se obtuvo la siguiente ecuación de la recta $A = 0,0014C + 0,0144$ ($R^2 = 0,9990$).

Para obtener la concentración de flavonoides totales en el extracto liofilizado se sustituyó el valor de la absorbancia obtenida espectrofotométricamente a 100ppm del extracto liofilizado de hojas, los cuales fueron expresados en mg Eq Q/100g de extracto liofilizado y en porcentaje.

Tabla 6-3. Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría.

Muestra a analizar	Flavonoides Totales	
	mg Eq Q/100 g Extracto liofilizado	Porcentaje (%)
Hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	1164,6095 ± 12,5367	11,6461 ± 0,1254

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Tabla 7-3. Concentración de flavonoides totales de diferentes especies vegetales.

Especie	Concentración	Parte usada en el Extracto hidroalcohólico
<i>Myrcianthes discolor</i>	830 mg Eq Q/100 g Extracto liofilizado	Diferentes partes
<i>Myrciaria dubia</i>	994,97 ± 194,0 mg Eq Q/100 g Extracto liofilizado	Pulpa
	2012,32 ± 102,1 mg Eq Q/100 g Extracto liofilizado	Cascara
	218,78 ± 0,1 mg Eq Q/100 g Extracto liofilizado	Semillas

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Fuente: (Sobrados, 2014), (Solis et al., 2009).

De la tabla 6-3 y tabla 7-3, se observa que la cantidad de flavonoides totales obtenidos en el extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *M. hallii* fue mayor que la cantidad de flavonoides totales para *Myrcianthes discolor*. Entre *M. hallii* y *Myrciaria dubia*, la última presenta un valor superior de flavonoides totales en la cáscara. De las comparaciones anteriores, se considera que el valor de la concentración de flavonoides totales para *M. hallii* es significativo, puesto que la presencia de este tipo de metabolitos aportan actividades de tipo: cardiotónica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplástica y antimicrobiana (Gutiérrez et al., 2008:pp. 2).

3.6 Ensayo de Actividad Antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante de las hojas de *Myrcianthes hallii* se utilizó el método del DPPH[·]; el cual se fundamenta en la reducción de DPPH[·] a DPPH₂ por la aceptación de un átomo de hidrógeno (H), el (H⁺) es donado por la molécula antioxidante, el resultado final es el cambio de color de púrpura a amarillo, la lectura se realizó a una absorbancia de 515 nm. (Mishra et al., 2012c: p. 1041). Se calculó las concentraciones IC₅₀ utilizando el programa BLeSq.

Tabla 7-3: Resultados del IC₅₀

Tipo de muestra	Resultado de IC ₅₀	Rango
HOJAS	102,45 µg/ml	87,67 – 119,72 µg/ml

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018

Los resultados expuestos en la tabla -3 indican un valor de IC₅₀ de 102,45 µg/ml para las hojas de *Myrcianthes hallii* sin embargo no existe investigaciones previas a este estudio para realizar una comparación.

Por lo que se hará referencia a investigaciones realizadas a otras especies de la familia *Myrtaceae*. De los extractos metanólicos de pulpa, cáscara y semillas de *Myrciaria dubia* (Solis et al., 2009), se obtuvieron valores de IC₅₀ de 167,67±30,0 µg/ml, 146,94±2,1 µg/ml y 399,77±15,7 µg/ml respectivamente, resultados menores al ser comparados con el IC₅₀ de las hojas de *Myrcianthes hallii*, demostrando que la actividad antioxidante para el caso de *M. hallii* es mayor, debido a que mientras menor sea el IC₅₀ de una muestra, mayor será su capacidad antioxidante (Cuvelier and Berset, 1995), (Anthony and Saleh, 2013).

En la tesis realizada por Vidal y Arevalo (Vidal et al, 2016) con *Myrcianthes myrsinoides*, se realizó extractos de las hojas en etanol a 97°, 70° y 45° expresaron valores de IC₅₀ de: 670,0±0,05 µg/ml, 650,0±0,06 µg/ml y 600,0±0,05 µg/ml respectivamente, los cuales muestra

una actividad antioxidante menor respecto al IC₅₀ obtenido del extracto de hojas de *Myrcianthes hallii*.

3.7 Ensayo de la Actividad Antiinflamatorio *in vitro*

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*, se procedió con la metodología modificada de Tan y Berridge que mide mediante espectrofotometría la reducción de las sales de tetrazolio (WST-1), en presencia de neutrófilos aislados activos. Con las lecturas obtenidas se procedió a determinar el porcentaje de inhibición antiinflamatoria cuyos resultados se presentan a continuación:

Tabla 8-3. Porcentaje de inhibición de la inflamación de muestras de hojas de *Myrcianthes hallii* a diferentes concentraciones.

Concentraciones	Inhibición inflamatoria de hojas (%)
Concentración 12,5 ppm	29,79 ± 1,91
Concentración 25 ppm	45,66 ± 5,56
Concentración 50 ppm	65,31 ± 5,44
Concentración 100 ppm	69,55 ± 3,39
Concentración 200 ppm	79,67 ± 3,02
IC50	31,68
Rango	21,23 – 46,19

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Tabla 9-3. Porcentaje de inhibición de la inflamación de muestras de Aspirina a diferentes concentraciones.

Concentraciones	Inhibición inflamatoria de Aspirina (%)
Concentración 12,5 ppm	9,40 ± 0,74
Concentración 25 ppm	20,69 ± 5,36
Concentración 50 ppm	32,62 ± 1,61
Concentración 100 ppm	54,37 ± 0,51
Concentración 200 ppm	68,88 ± 3,90

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Los resultados de la tabla 8-3 y tabla 9-3 muestran los porcentajes de inhibición de la inflamación de los extractos hidroalcohólicos de *M. hallii* y de la Aspirina a diferentes concentraciones, al comparar se puede apreciar que el porcentaje de inhibición es más mayor para los extractos que el obtenido con la aspirina, esto puede deberse a la calidad y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, como es la presencia del ácido quínico, que es

un flavonoide polifenólico con actividad antiinflamatoria y antioxidante (Jang et al., 2017) (Chavez Carvajal et al., 2016), taninos (Chavez Carvajal et al., 2016) como: el punicafolin que posee efectos supresores de tumores (Tanaka, 1985), el hexahidroxifenol-D-glucosa que posee actividades antiinflamatorias (Zhao et al., 2008), (Chavez Carvajal et al., 2016), y las procianidinas que ayudan a regular enfermedades metabólicas (Freitas et al., 1998). La presencia de algunos tipos de alcaloides podrían influenciar sobre esta actividad, es así que se describen algunos de los alcaloides más conocidos como: la cafeína, efedrina, mezcaltina, nicotina, codeína, psilobicina, la estrictina y la piperina los cuales poseen efectos estimulantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, broncodilatadores y analgésicos (PlantasySalud, 2017).

En el estudio realizado por Portero (2017:pp.72-75) en la planta *Crinum x amabile* en el extracto bruto del bulbo, extracto bruto de hojas, extracto alcaloidal del bulbo y extracto alcaloidal de las hojas, se obtuvieron valores del porcentaje de inhibición de la inflamación a 200ppm de: $56,35 \pm 0,24$; $35,66 \pm 1,16$; $57,12 \pm 0,14$ y $22,93 \pm 5,57$ respectivamente, los cuales al compararlos con el porcentaje de inhibición de la inflamación a 200 ppm del extracto etanólico liofilizado de las hojas de *M. hallii* con un valor de $68,38 \pm 3,90$ podemos apreciar que los resultados expresados en el presente estudio poseen mejor actividad antiinflamatoria con respecto a *Crinum x amabile* esto se puede deber al contenido, calidad y cantidad de metabolitos presentes en *M. hallii*.

En la investigación de Bermudez (2017:pp.53-54), en la cual se realizó un extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Piper peltatum* liofilizado se presentó un porcentaje de inhibición de la inflamación a 200 ppm de $67,56 \pm 0,46$ cuyo valor se encuentra cercano al obtenido para el extracto etanólico liofilizado de las hojas de *Myrcianthes hallii* a la concentración de 200 ppm, el cual es de $68,38 \pm 3,90$ expresado en porcentaje de inhibición de la inflamación, por la mínima diferencia que existen entre sus valores es necesario estudios más precisos para determinar cuál de las dos presenta mejor actividad antiinflamatoria.

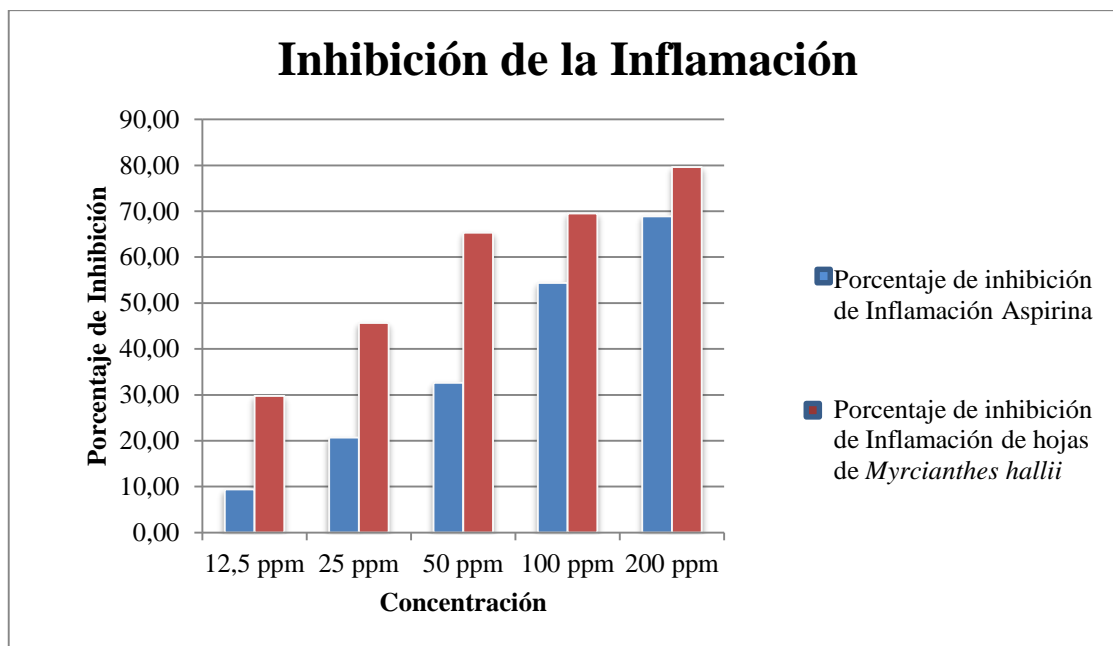


Grafico 1-3. Porcentaje de inhibición de la inflamación de hojas de *Myrcianthes hallii* y de Aspirina a diferentes concentraciones.

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

Los resultados que se obtuvieron del ensayo, se evaluaron estadísticamente mediante el Software SPSS 23. Se aplicó el Test de ANOVA para establecer las diferencias en el porcentaje de inhibición de la inflamación entre los extractos de las hojas de *Myrcianthes hallii* y la Aspirina. Para lo cual fue necesario un análisis previo de los resultados, mediante pruebas de balanceo, normalidad y homocedasticidad de varianzas, para verificar si los datos obtenidos cumplen con las condiciones para una estadística paramétrica o no paramétrica.

Para la prueba de normalidad entre los valores obtenidos del porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto de las hojas de *Myrcianthes hallii* y la aspirina; el valor obtenido fue de $p=0,064$ que es mayor a 0,05 (nivel de confianza), se aceptó la hipótesis nula ($H_0: \mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4$) la cual dice que los datos siguen una distribución normal y se rechazó la hipótesis alternativa ($H_1= \mu_1\neq\mu_2\neq\mu_3\neq \mu_4$) que exhibe que los datos no siguen una distribución normal. (Anexo L)

En la prueba de homocedasticidad de varianzas para la misma comparación, el valor de $p=0,343$, se estableció que la distribución de los datos no son diferentes es decir son homogéneos ($p>0,05$), por lo tanto no se rechaza la hipótesis nula

$$H_0: s_1^2 = s_2^2 = \dots = s_k^2$$

$H_1: \text{al menos una varianza diferente}$

Y concluimos que se cumple con el supuesto de homocedasticidad.

Analizados los tres requisitos se realizó una prueba de ANOVA para determinar la semejanza entre las medias de los datos obtenidos, planteándonos la siguiente hipótesis:

$$H_0: m_1 = m_2 = \dots = m_k$$

H_1 : al menos dos medias no son iguales

Con un valor de $p= 0,011$; rechazamos la hipótesis nula, existiendo una diferencia entre las medias. Al tratar dos grupos no se pudo realizar una prueba post hoc, sin embargo, en el gráfico que se generó se observa que el porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto de hojas de *Myrcianthes hallii* es 1,56 veces mejor que la Aspirina. (ANEXO N)

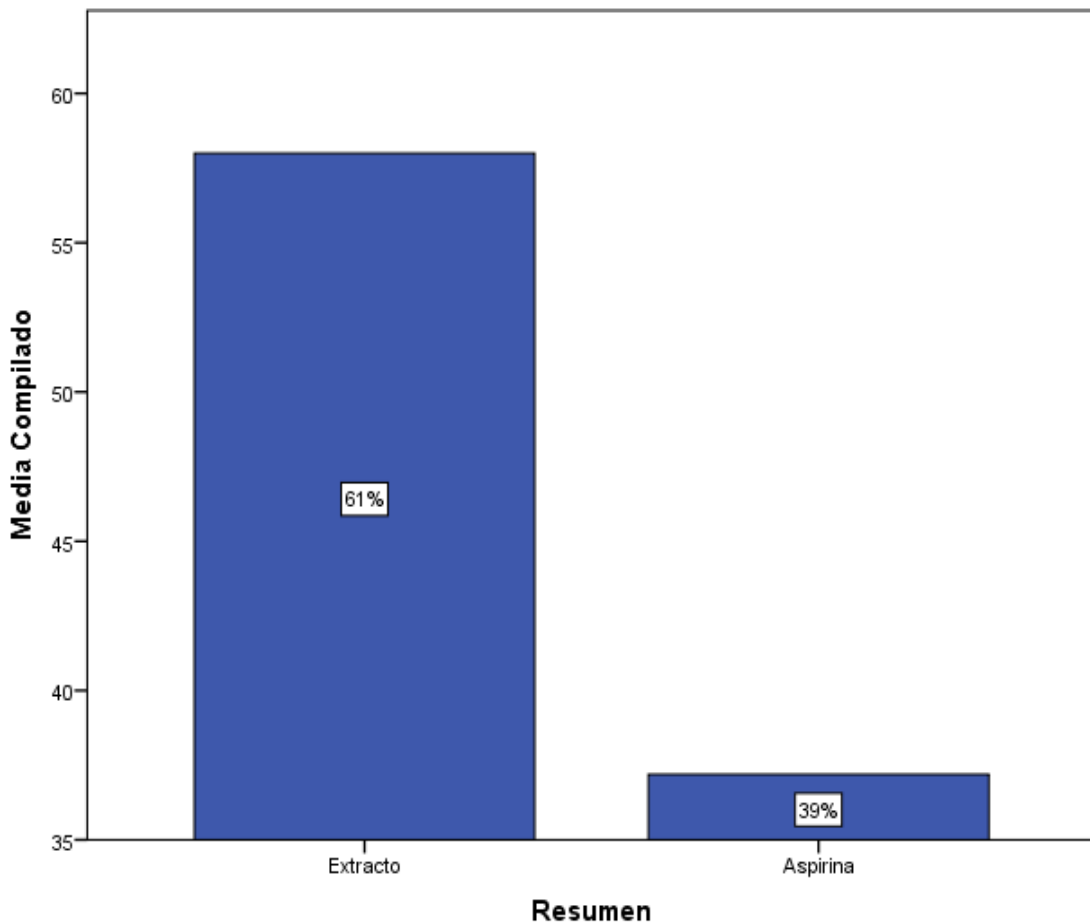


Gráfico 2-3. Media de porcentaje de inhibición de la inflamación obtenidas del extracto de hojas de *Myrcianthes hallii* comparado con la Aspirina

Realizado por: Gabriel Mirallas, 2018.

CONCLUSIONES

En base a los datos obtenidos en el control de calidad de la droga cruda de *Myrcianthes hallii*, se concluye que se realizó un manejo adecuado durante la cosecha, post cosecha y almacenamiento del material vegetal, cumpliendo con las especificaciones dictaminadas para la investigación según la norma USP #28.

En el control de calidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes hallii* se determinaron factores como: requisitos organolépticos, densidad relativa, índice de refracción, sólidos totales y pH, dando resultados característicos de la especie y del solvente usado.

Del tamizaje fitoquímico de las hojas de *Myrcianthes hallii*, se comprobó la presencia de diferentes metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos y en menor cantidad compuestos con grupos funcionales del tipo lactonas, azúcares reductores, saponinas y principios amargos.

Se cuantificó espectrofotométricamente los flavonoides totales y fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Myrcianthes hallii*, obteniendo valores significativamente apreciables.

Se valoró la capacidad captadora de radicales libres de hojas de *Myrcianthes hallii* mediante el ensayo DPPH' estableciendo un valor significativo de un $IC_{50}=102,45 \mu\text{g/ml}$.

Se determinó estadísticamente que el extracto de hojas de *Myrcianthes hallii*, presenta una actividad antiinflamatoria 1,56 veces mejor que la Aspirina con un valor de porcentaje de inhibición de la inflamación de 79,67% y 68,88% a 200 ppm para cada caso.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar investigación sobre las distintas partes de la planta, aislar sus compuestos mediante técnicas cromatográficas y elucidar sus estructuras a través de NMR, MS para determinar los metabolitos secundarios que pueden ser responsables de la actividad antiinflamatoria, puesto que en el presente estudio realizado en las hojas de *Myrcianthes hallii* presentan un gran potencial para inhibir la inflamación.

Se recomienda realizar ensayos *in vivo*, además estudios sobre el potencial citotóxico que pudiese presentar las hojas de *Myrcianthes hallii*.

Se recomienda realizar ensayos sobre la actividad cicatrizante, antioxidante y antiinflamatoria haciendo uso de aceites esenciales y de la porción alcaloidal de las hojas de *Myrcianthes hallii*.

BIBLIOGRAFÍA

ALOMAR, M. Antioxidante: ¿Captadores de radicales libres ó sinónimo de salud?. Sociedad Argentina de Medicina Estética [en línea], vol 1, pp.2 - 10 (2010). [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>.

BRAVO, VELÁSQUEZ, E. La biodiversidad en el Ecuador [en línea] Cuenca, Ecuador: ISBN 9780874216561, 2014, pp.10-140. Disponible en: [https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La Biodiversidad.pdf](https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf).

BERMÚDEZ, J. Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica *in vitro* de hojas de *Piper peltatum L.* (Tesis) [en línea], 2018, pp 57 -93. [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7938/1/56T00746.pdf>.

BORDÉS, R. El proceso inflamatorio. Revista de Enfermería [en línea], vol. 4 (2010), pp. 9-12. [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero4/pinflamatorio4.htm>.

BORGES, L.L., CONCEIÇÃO, E.C. y SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. Food Chemistry [en línea], vol. 153 (2014), pp. 224-233. [Consulta: 28 marzo 2018]. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/J.FOODCHEM.2013.12.064. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613019328>.

BOTÁNICOS, ROTMAN,A. Flora del valle de Lerma *Myrtaceae* juss. FLORA DEL VALLE DE LERMA [en línea], vol1, nº8 (2012), pp. 1-12. Disponible en: <http://eprints.natura.unsa.edu.ar/260/1/MYRTACEAE.pdf>.

CARRANZA, R. Farmacología de la inflamación y de las alergias. Guía de farmacología y terapéutica, 2014, pp. 77-83.

CUVELIER, M.E. y BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, vol. 30, 1995, pp. 25-30.

CHAVEZ CARVAJAL, P., COPPO, E., DI LORENZO, A., GOZZINI, D., BRACCO, F., ZANONI, G., NABAVI, S., MARCHESE, A., ARCIOLA, C. y DAGLIA, M. Chemical Characterization and *in vitro* Antibacterial Activity of *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh (*Myrtaceae*), a Traditional Plant Growing in Ecuador. Materials [en línea], vol. 9, no. 12 (2016), pp. 454. [Consulta: 26 febrero 2018]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1996-1944/9/6/454>.

CHÁVEZ DAQUILEMA, J.D.C. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii*), *in vitro* por inhibición de la hialuronidasa e *in vivo* en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). (Tesis) [en línea], 2016, pp. 91. [Consulta: 26 febrero 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5030>.

DAMETTO, A.C., AGUSTONI, D., MOREIRA, T.F., PLAZA, C. V., PRIETO, A.M., SILVA, T.G.A., SOUZA, F.O., BORALLE, N., MARIA SORBO, J., SILVA, D.H.S. y SOARES, C.P. Chemical composition and *in vitro* chemoprevention assessment of *Eugenia jambolana* Lam. (*Myrtaceae*) fruits and leaves. *Journal of Functional Foods* [en línea], vol. 36 (2017), pp. 490-502. [Consulta: 28 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617304012>.

DEVI, K.P., RAJAVEL, T., HABTEMARIAM, S., NABAVI, S.F. y NABAVI, S.M. Molecular mechanisms underlying anticancer effects of myricetin. *Life Sciences* [en línea], vol. 142 (2015), pp. 19-25. [Consulta: 23 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320515300308>.

DURÁN, G. et al. Anales de medicina interna. Arán Ediciones, S.A. [en línea], vol. 19, nº 1 (2002). [Consulta: 13 abril 2018]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021271992002000100010&script=sci_arttext&tlng=pt.

ECUADOR. Ecuador ama la vida. [en línea] 2017. [Consulta: 23 abril 2018]. Disponible en: <https://ecuadoramalavida.com.ec/>.

FARFAN, J. et al. Herbario virtual austral americano detailed collection record information. [en línea] 2007. [Consulta: 25 febrero 2018]. Disponible en: <https://herbariovaa.org/collections/individual/index.php?occid=1962625>.

FERNÁNDEZ, U.F. Inflamación y plantas medicinales. [en línea] La Habana, Ecimed, 2008 pp. 2-30. [Consulta: 3 marzo 2018]. Disponible en: http://www.paho.org/cub/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=mnt&alias=896-inflamacion-y-plantas-medicinales&Itemid=226.

FREITAS, V.A.P. d., GLORIES, Y., BOURGEOIS, G. y VITRY, C. Characterisation of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry. *Phytochemistry* [en línea], vol. 49, no. 5 (1998), pp. 1435-1441. [Consulta: 23 marzo 2018]. ISSN 0031-9422. DOI 10.1016/S0031-9422(98)00107-1. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942298001071>.

GALLIN, J., GOLDSTEIN, I. y SNYDERMAN, R. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. New York [en línea], vol. 25 (1993), pp. 350. [Consulta: 23 marzo 2018]. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/407009>.

GÓMEZ ESTRADA, H.A., GONZÁLEZ RUIZ, K.N. y MEDINA, J.D. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [en línea], vol. 10, no. 3 (2011), pp. 182-217. ISSN 07177917. [Consulta: 13 abril 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/service/redalyc/downloadPdf/856/85618379003/Actividad+Antiinflama+toria+de+Productos+Naturales/1>.

GONZÁLES R. et al. Citocinas inflamatorias, sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico. Revista cubana de investigaciones biomédicas [en línea], vol. 26 (2007), pp. 8. [Consulta: 13 abril 2018]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002007000400008.

GUASGUA, J. Efecto inhibitorio de los extractos de arrayán (*Myrcianthes halli*) y aguacate (*Persea americana*) sobre la cepa porphyromona gingivalis. Estudio *in vitro*. (Tesis) [en línea], 2012 pp. 2-3. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8277/1/T-UCES-0015-452.pdf>.

GUTIÉRREZ AVELLA, D., ALBERTO ORTIZ GARCÍA, C. y MENDOZA CISNEROS, A. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. [en línea], vol. 1 (2008), pp. 5. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf.

INNES, J.K. y CALDER, P.C. Omega-6 fatty acids and inflammation. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids [en línea], pp. 35 (2018). [Consulta: 13 abril 2018]. DOI 10.1016/j.plefa.2018.03.004. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952327818300747>.

ISHIZAKA, K. et al. Mast Cell Activation and Mediator Release. [en línea], vol. 34 (1984), pp. 12. [Consulta: 26 abril 2018]. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/PDF/408371>.

JANG, S.-A., PARK, D.W., KWON, J.E., SONG, H.S., PARK, B., JEON, H., SOHN, E.-H., KOO, H.J. y KANG, S.C. Quinic acid inhibits vascular inflammation in TNF- α -stimulated vascular smooth muscle cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [en línea], vol. 96 (2017), pp. 563-571. [Consulta: 23 marzo 2018]. ISSN 0753-3322. DOI 10.1016/J.BIOPHA.2017.10.021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217305280>.

JARAMILLO, K. Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación de arrayán (*Myrcianthes hallii*) (Tesis) [en línea], 2013, pp. 20 - 35. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1103/1/T-UCE-0004-17.pdf>.

LARSEN, G.L. y M.HENSON, P. Mediators of Inflammation. *Immunol* [en línea], vol. 1 (1983), no. 85, pp. 335-359. ISSN 09629351. DOI 10.1146/annurev.iy.01.040183.002003. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6399978>.

LAZARINI, J.G., FRANCHIN, M., INFANTE, J., PASCHOAL, J.A.R., FREIRES, I.A., DE ALENCAR, S.M. y ROSALEN, P.L. Anti-inflammatory activity and polyphenolic profile of the hydroalcoholic seed extract of *Eugenia leitonii*, an unexplored Brazilian native fruit. *Journal of Functional Foods* [en línea], vol. 26 (2016), pp. 249-257. [Consulta: 3 abril 2018]. ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/J.JFF.2016.08.001. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616302092>.

LAZARINI, J.G., SARDI, J. de C.O., FRANCHIN, M., NANI, B.D., FREIRES, I.A., INFANTE, J., PASCHOAL, J.A.R., DE ALENCAR, S.M. y ROSALEN, P.L. Bioprospection of *Eugenia brasiliensis*, a Brazilian native fruit, as a source of anti-inflammatory and antibiofilm compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [en línea], vol. 102 (2018), pp. 132-139. [Consulta: 3 abril 2018]. ISSN 0753-3322. DOI 10.1016/J.BIOPHA.2018.03.034. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217366829>.

LESJAK, M., BEARA, I., SIMIN, N., PINTAĆ, D., MAJKIĆ, T., BEKVALAC, K., ORČIĆ, D. y MIMICA-DUKIĆ, N. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods* [en línea], vol. 40 (2018), pp. 68-75. [Consulta: 23 marzo 2018]. ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/J.JFF.2017.10.047. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617306588>.

LEIHERER, A., MÜNDLEIN, A. y DREXEL, H. Phytochemicals and their impact on adipose tissue inflammation and diabetes. *Vascular Pharmacology* [en línea], vol. 58, no. 2(2013), pp. 3-20. ISSN 15371891. DOI 10.1016/j.vph.2012.09.002. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vph.2012.09.002>.

MACK, M. Inflammation and fibrosis. *Matrix Biology* [en línea], vol. 1 (2017), pp. 35. [Consulta: 13 abril 2018]. DOI 10.1016/j.matbio.2017.11.010. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0945053X1730375X>.

MALE, D., CHAMPION, B., COOKE, A. y OWEN, M. *Advance Immunology* 1991. pp. 317.

MATIZ, G., ANDREA CÁRDENAS, P. y RINCÓN, J. V., Estudios de preformulación de un fitomedicamento tópico antiinflamatorio con base en fracciones activas de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima*. Latin American Journal of Pharmacy Am. J. Pharm [en línea], vol. 26, no. 3 (2007), pp. 332-8. [Consulta: 3 marzo 2018]. Disponible en: http://latamjpharm.org/trabajos/26/3/LAJOP_26_3_1_2_7G710U20XW.pdf.

MERCOLA, J Terapias No Farmacológicas Para El Manejo Del Dolor En Adultos . [en línea] 2017. [Consulta: 1 marzo 2018]. Disponible en: https://www.drugs.com/cg_esp/terapias-no-farmacologicas-para-el-manejo-del-dolor-en-adultos.html.

MISHRA, K., OJHA, H. y CHAUDHURY, N.K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH Å assay : A critical review and results. Food Chemistry [en línea], vol. 130, no. 4, 2012, pp. 1036-1043. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2011.07.127. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>.

MIRANDA, M. Farmacognosia y productos naturales. La Habana Cuba, 2006.

MITCHELL, R. et al. Compendio de Robbins y Cotran Patología estructural y funcional [en línea], vol 3 (2007). [Consulta: 13 abril 2018]. Disponible en: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=UCC.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mn=100250>.

MIZUSHINA, Y., KURIYAMA, I., YAMAZAKI, A., AKASHI, T. y YOSHIDA, H. Cycloartenyl trans-ferulate, a component of the bran byproduct of sake-brewing rice, inhibits mammalian DNA polymerase and suppresses inflammation. Food Chemistry [en línea], vol. 141, no. 2(2013), pp. 1000-1007. ISSN 18737072. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.04.048. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.048>.

MORENO, M. ¿Qué es un azúcar reductor? Foroactivo.com [en línea] 2016. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: <http://bioquimicaii.foroblog.net/t25-que-es-un-azucar-reductor>.

ORTIZ V., et al. Antiinflamatorios no esteroideos y paracetamol, 2007, pp. 148-155.

PISTERNA, G., 2006. Estudios de la incidencia de los mecanismos de adhesión molecular en los procesos inflamatorios de la pulpa (Tesis) [en línea], 2006, pp. 14. [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.rephip.unr.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/2133/1417/39-69-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

PLANTASYALUD. Principios activos: Alcaloides • Las plantas y la salud. [en línea]. 2017. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: <http://plantasysalud.com/principios-activos-alcaloides/>.

PNQ. *Myrcianthes hallii*. [en línea]. 2017. [Consulta: 25 febrero 2018]. Disponible en: <http://plantasnativas.visitavirtualjbq.com/index.php/emblematicas/6-myrcianthes-hallii>.

PORTERO, S. Evaluación de la actividad anti-inflamatoria y citotóxica *in vitro* de *Crinum x amabile*. (Tesis) [en línea], 2017, pp.98. [Consulta: 11 abril 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7937/1/56T00745.pdf>.

REYNA, E. et al. Inmunología, inflamación y preeclampsia. Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela [en línea], vol. 69, no. 2 (2009), pp. 97-110. [Consulta: 13 abril 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0048-77322009000200005&script=sci_arttext&tlng=en.

RIOS, M., et al. Medicinal plants sold at traditional markets in southern Ecuador. Journal of ethnobiology and ethnomedicine, vol. 12, no. 1 (2016), pp. 29. [Consulta: 4 marzo 2018]. ISSN 1746-4269. DOI 10.1186/s13002-016-0100-4. Disponible en: <https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13002-016-0100-4>

RISCO, E. Valoración de la actividad antiinflamatoria de cinco especies vegetales utilizadas en medicina tradicional en el norte de africa. [en línea] 2007: [Consulta: 3 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.l-h.cat/gdocs/d6995232.pdf>.

ROSAS, J. et al. Capítulo 26: Antiinflamatorios no esteroideos [en línea] 2008 pp. 470. [Consulta: 26 febrero 2018]. Disponible en: <http://www.svreumatologia.com/wp-content/uploads/2008/04/Cap-26-Antiinflamatorios-no-esteroideos.pdf>.

SARANGARAJAN, R., et al. Antioxidantes : ¿amigo o enemigo? ELSEVIER [en línea], vol.10 (2016), pp. 6. [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: https://ac.els-cdn.com/S1995764517311999/1-s2.0-S1995764517311999-main.pdf?_tid=1f3fe134-7a5a-4ab5-8506-da6b5150b763&acdnat=1520178339_e95cbc87fcc1fa4be1f3aabc7d8b028f.

SALUDBIO. Antocianinas (antocianidinas). Propiedades | SaludBio. [en línea].2017. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: <https://saludbio.com/articulo/antocianidinas-antocianinas>.

SERAGLIO, S.K.T., SCHULZ, M., NEHRING, P., DELLA BETTA, F., VALESE, A.C., DAGUER, H., GONZAGA, L.V., FETT, R. y COSTA, A.C.O. Nutritional and bioactive

potential of *Myrtaceae* fruits during ripening. Food Chemistry [en línea], vol. 239 (2018), pp. 649-656. [Consulta: 3 abril 2018]. ISSN 03088146. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.06.118. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617311007>.

SKIBSTED, L.H. Anthocyanidins regenerating xanthophylls: a quantum mechanical approach to eye health. Current Opinion in Food Science [en línea], vol. 20 (2018), pp. 24-29. [Consulta: 24 abril 2018]. DOI 10.1016/J.COFS.2018.02.014. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799317301613>.

SOBRADOS, A. Cuantificación y capacidad antioxidante *in vitro* de los flavonoides totales del extracto fluido de las hojas de *Myrcianthes discolor* (LANCHE), proveniente de la ciudad de Contimazá (Tesis II) [en línea], 2014, pp.15,34. [Consulta: 5 abril 2018]. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1608/Sobrados_Quezada%2C_Dennis_Alfredo.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

SOLIS, V.S., DOZA, L.S., GARCÍA DE SOTERO, D. y CORREA, S.I. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semillas del fruto camu camu *Myrciaria dubia*. *Rev Soc Quím Perú*. *Rev Soc Quím Perú* [en línea], vol. 75, no. 753 (2009). [Consulta: 5 abril 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3719/371937614003.pdf>.

TAN, A.S. y BERRIDGE, M. V. Superoxide produced by activated neutrophils efficiently reduces the tetrazolium salt, WST-1 to produce a soluble formazan: a simple colorimetric assay for measuring respiratory burst activation and for screening anti-inflammatory agents., vol. 238, 2000, pp. 59-68

TANAKA, T. et al. Punicafolin, an ellagitannin from the leaves of *Punica granatum*. *Phytochemistry* [en línea], vol. 24, no. 9 (1985), pp. 2075-2078. [Consulta: 22 marzo 2018]. ISSN 0031-9422. DOI 10.1016/S0031-9422(00)83125-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942200831258>.

TORRES, M. Prostaglandinas E2 en la activación osmótica inducida por manitol en el mastocito (Tesis) [en línea], 2010, pp. 28. [Consulta: 13 abril 2018]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2011/hdl_10803_48714/ivmta1de1.pdf.

ULLOA, C. y MALLER, P. *Myrtaceae* in Trees and shrubs of the Andes of Ecuador. [en línea] 2002. [Consulta: 24 febrero 2018]. Disponible en: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=10599.

VANDEWALLE, J., LUYPAERT, A., DE BOSSCHER, K. y LIBERT, C. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. Trends in Endocrinology & Metabolism [en línea], vol. 29, no. 1 (2018), pp. 42-54. [Consulta: 28 febrero 2018]. ISSN 10432760. DOI 10.1016/j.tem.2017.10.010. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276017301480>.

VIDAL, M. y AREVALO, S. Determinación del contenido de compuestos fenólicos y evaluación de la actividad antioxidante de *Myrcianthes myrsinoides* (H.B.K) Grifo, procedentes del Distrito de Cachicadán - La Libertad, Perú (Tesis) [en línea], 2016, pp.30. [Consulta: 9 abril 2018]. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1481/Polo Vidal Milagros Elizabeth II.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1481/Polo%20Vidal%20Milagros%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

VILLALBA, H. Inflamación I. Revista de actualización clínica [en línea]. vol.43 (2014), pp. [Consulta: 28 febrero 2018].ISSN-2304-3768. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S230437682014000400004&script=sci_arttext

WHITTLE, B.A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. J. Pharmacol [en línea], vol. 22, pp. 246-253 (1964). [Consulta: 3 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1703970/pdf/bripharmchem00036-0028.pdf>.

XU, W. y LARBI, A. Immunity and Inflammation: From Jekyll to Hyde. *Experimental Gerontology* [en línea], vol 3 (2017), pp. 12. [Consulta: 13 abril 2018]. DOI 10.1016/j.exger.2017.11.018. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0531556517305156>.

YANZA, K. Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica del extracto hidroalcohólico de flores y hojas de *Oreocallis grandiflora* (Tesis) [en línea], 2017, pp.95. [Consulta: 4 marzo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7929/1/56T00743.pdf>.

ZHAO, L., ZHANG, S.-L., TAO, J.-Y., PANG, R., JIN, F., GUO, Y.-J., DONG, J.-H., YE, P., ZHAO, H.-Y. y ZHENG, G.-H. Preliminary exploration on anti-inflammatory mechanism of Corilagin (beta-1-O-galloyl-3,6-(R)-hexahydroxydiphenoyl-d-glucose) *in vitro*. International Immunopharmacology [en línea], vol. 8, no. 7 (2008), pp. 1059-1064. [Consulta: 23 marzo 2018]. ISSN 1567-5769. DOI 10.1016/J.INTIMP.2008.03.003. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576908000842>.

ANEXOS

Anexo A: Localización y procesado de secado de hojas de *M. hallii*.

Gráfico 1A Lugar de Recolección

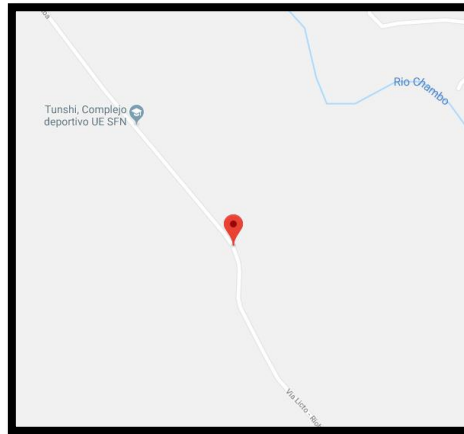


Gráfico 2A Secado de hojas de *M. hallii*



Anexo B. Hojas de *M. hallii* obtenidas de los extractos.

Gráfico 1B Extracto Etéreo



Gráfico 2B Extracto alcohólico



Gráfico 3B Extracto acuoso



Anexo C. Extracto de hojas de *M. hallii*

Gráfico 1C Extracto Etéreo

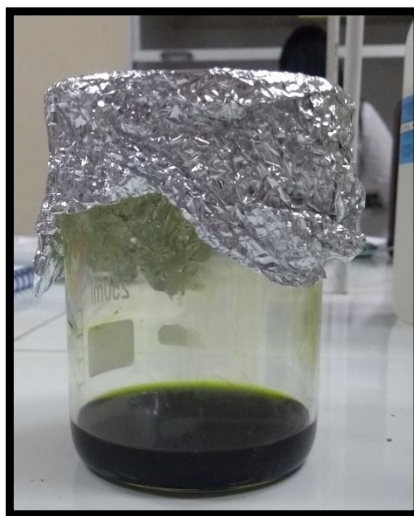
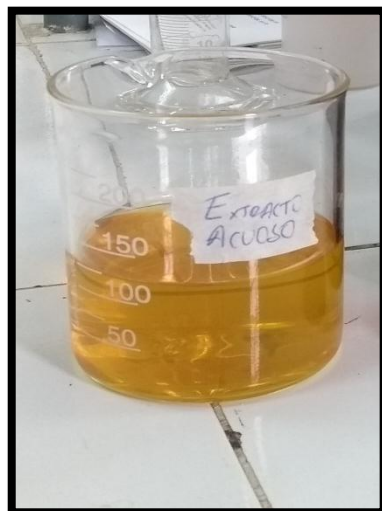


Gráfico 2C Extracto alcohólico



Gráfico 3C Extracto acuoso



Anexo D. Tamizaje fitoquímico de las hojas de *M. hallii*

Gráfico 1D Extracto Etéreo



Gráfico 2D Extracto alcohólico



Gráfico 3D Extracto acuoso



Anexo E. Humedad de hojas de *M. hallii*

Gráfico 1E Muestra para la determinación de humedad



Anexo F. Determinación de Cenizas Totales, Solubles e Insolubles

Gráfico 1F Calcinación de muestras de hojas de *M. hallii*



Gráfico 2F Determinación de Cenizas Totales



Gráfico 3F Determinación de Cenizas Solubles e Insolubles



Anexo G. Extracto hidroalcohólico de hojas de *M. hallii*

Gráfico 1G Extracto hidroalcohólico



Gráfico 2G Determinación de la Densidad Relativa del Extracto Hidroalcohólico



Gráfico 3G Determinación del pH del Extracto Hidroalcohólico



Anexo H. Liofilización del Extracto Hidroalcohólico

Gráfico 1H Proceso de liofilización



Anexo I. Solución de hojas de *M. hallii* para determinación de Flavonoides totales y Fenoles totales.

Gráfico 1I Solución Madre



Gráfico 2I Curva de calibración de ácido gálico utilizada para la cuantificación de fenoles totales

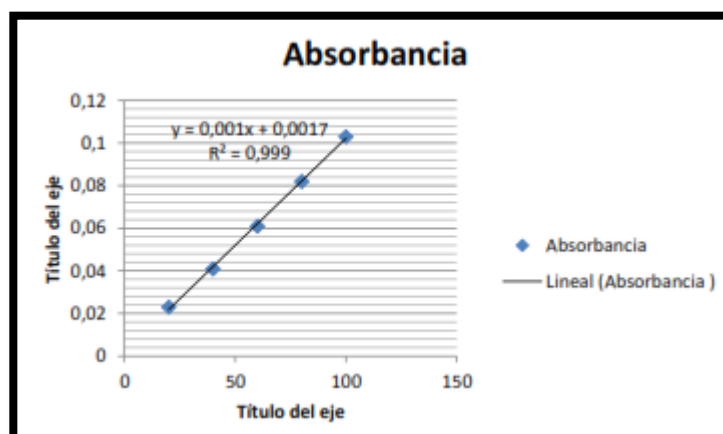
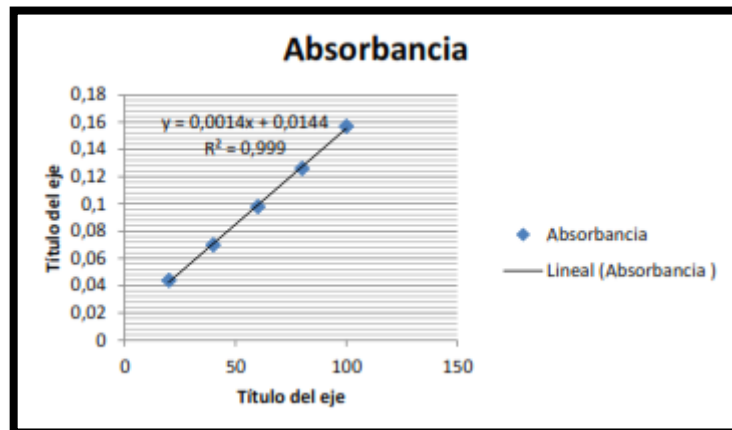


Gráfico 3I Curva de calibración de quercetina utilizada para la cuantificación de flavonoides totales



Anexo J. Determinación de Capacidad Antioxidante de hojas de *M. hallii*

Gráfico 1J Soluciones madre

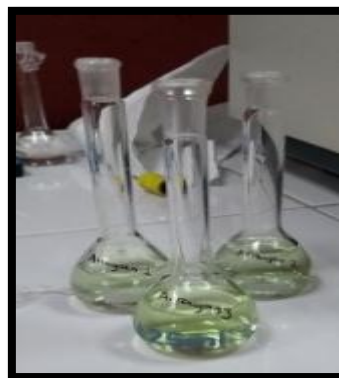


Tabla 1J Captación de DPPH % de hojas de *M. hallii*

Concentraciones utilizadas (ppm)	Captación de DPPH%
10	7,93
20	12,63
50	26,61
100	47,94
200	67,46
500	90,34
1000	91,11

Anexo K. Ensayo de la Actividad Antiinflamatoria de *M. hallii*

Gráfico 1K Muestra de hojas de *M. hallii* y Aspirina a diferentes concentraciones



Gráfico 2K Muestra previo a la Incubación

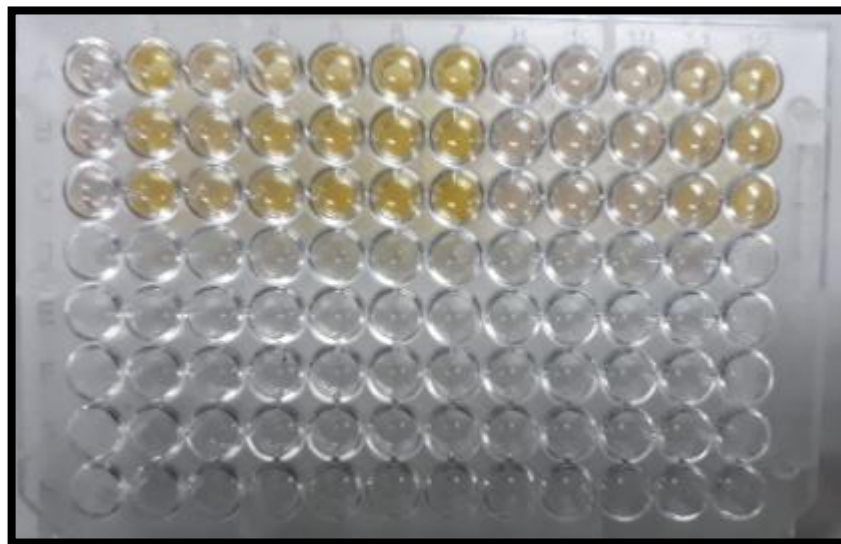


Gráfico 3K Posterior a la Incubación

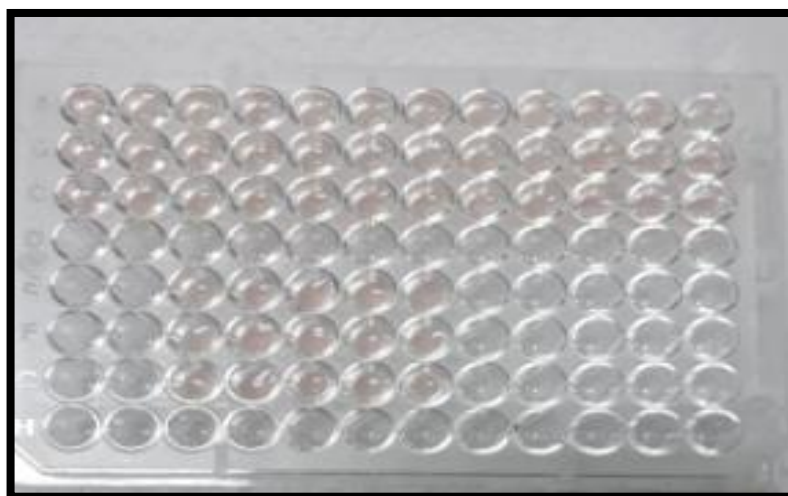


Gráfico 4K Equipo de Lectura de Absorbancias



Anexo L. Pruebas de Normalidad para los datos obtenidos de hojas de *M. hallii* y Ácido Acetilsalicílico.

Gráfico 1L Prueba de Normalidad de hojas de *M. hallii* y Aspirina.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Compilado	,130	30	,200*	,934	30	,064

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo M. Prueba de Homogeneidad de Varianzas de los datos

Gráfico 1M. Prueba de Homogeneidad de Varianzas de hojas de *M. hallii* y Aspirina.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Compilado			
→ Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,932	1	28	,343

Anexo N. Prueba de ANOVA de los datos.

Gráfico 2N. Prueba de ANOVA de hojas de *M. hallii* y Aspirina.

ANOVA					
Compilado					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3246,258	1	3246,258	7,466	,011
Dentro de grupos	12174,107	28	434,790		
Total	15420,365	29			