

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

**Estudio Farmacológico de los extractos polar, medianamente polar y apolar
de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodó) como antiinflamatorios
(Estudio Farmacológico de Fase II).**



PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

INFORME DE TESIS

Presentado por:

Mynor Rolando Hernández Espina

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, noviembre de 1995

D.L
06
7(705)0 F

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
SECRETARIA	Licda. Eleonora Gaitán Izaguirre
VOCAL I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
VOCAL II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
VOCAL III	Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume
VOCAL IV	Br. Ana María Rodas Cardona
VOCAL V	Br. Hayro Oswaldo García García

DEDICATORIA

A Dios
Fuente infinita de sabiduría.

A la memoria de mi padre
Leonardo Hernández Castro (Q.E.P.D)
por haber forjado mi ser y por constituirse en ejemplo de rectitud,
reponsabilidad y bondad

A mi madre
Romelia Espina Vda. de Hernández
por su apoyo constante e incondicional y como un reconocimiento a su
esfuerzo y sacrificio

A mis hermanos
Hugo Rodolfo y Jaime Roberto
con cariño fraternal

A Ana Cecilia Barrientos
por su cariño, comprensión y apoyo.

A mis sobrinos
Dulce María, Hugo Leonardo, José Carlos, Carol Leticia y Javier Roberto

A mis primos en general y particularmente a
Arturo Ojeda, Rubia Palma de Ojeda, Sandra Palma y Raúl Espina

A mis tíos en general y especialmente a
Victor Hernández, Bertha Z. de Hernández, Crisanta Hernández y
Gonzalo Espina.

A mis amigos y compañeros en general y en particular a
Vinicio Alvarado, Ana María Carrera, Daniel Ortiz, Alvaro Armas,
Walter Méndez, Norma Bautista, Ketty Lemus, Ligia Orozco,
Lys Morales, William Tally, Carolina Guzmán, Sergio Rodas, Luis Caniz,
Giovani Morales, Jorge Galindo y Erick Martínez.

A mis maestros y amigos, especialmente a
Lic. Sergio D. Ortiz, Lic. Luis Hugo Santacruz, Dra. Amarillis Saravia,
Licda. Raquel Pérez y Licda. Nora de Méndez

Y finalmente, una especial dedicatoria a la memoria
del gran amigo y compañero
Lic. Donald Arno Rosales Aguilar

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Amarillis Saravia Gómez por la asesoría del presente trabajo de tesis.

Al Lic. Luis Hugo Santacruz por la orientación en aspectos fitoquímicos que me brindó durante la ejecución del presente trabajo.

Al Lic. Federico Nave, por la coasesoría estadística de la presente investigación.

A la Licda. Lisette Madariaga por la colaboración brindada en lo referente a la ejecución de los ensayos farmacológicos del presente trabajo de tesis.

A la Dirección General de Investigación, al Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas y al departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por el apoyo financiero proporcionado para la ejecución de la presente investigación.

INDICE

	pág.
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
3. ANTECEDENTES	3
4. JUSTIFICACIONES	8
5. OBJETIVOS	9
6. HIPOTESIS	10
7. MATERIALES Y METODOS	11
8. RESULTADOS	20
9. DISCUSION	70
10. CONCLUSIONES	73
11. RECOMENDACIONES	74
12. REFERENCIAS	75
13. ANEXOS	83

1. RESUMEN:

La presente investigación fue realizada con el propósito de evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos apolar (hexánico), medianamente polar (etanólico) y polar (acuoso) de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo), como un estudio Farmacológico de Fase II.

Los extractos fueron preparados según la metodología propuesta por I. Ciulei. La actividad antiinflamatoria de los extractos obtenidos fue evaluada conforme a la metodología de inducción de edema en la región subplantar de la pata de rata propuesta por Winter y cols. El tamizaje fitoquímico se realizó conforme a pruebas convencionales propuestas por varios autores, pero siguiendo principalmente el esquema propuesto por I. Ciulei. Se realizaron también ensayos de toxicidad aguda (DL_{50}) para varias dosis de cada extracto, para garantizar que se trabajaba con sustancias inocuas.

Los resultados obtenidos, demostraron que el extracto etanólico de flores *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) es el que posee la mejor actividad antiinflamatoria, pues mostró una respuesta adecuada a dosis iguales o mayores de 140 mg/Kg, el extracto hexánico sólo presentó actividad a dosis de 200 mg/Kg de peso, y el extracto acuoso no presentó actividad a ninguna de las dosis ensayadas. Ninguno de los extractos mostró toxicidad aguda a dosis iguales o menores de 320 mg/Kg de peso ($DL_{50} > 320$ mg/Kg). Los resultados de tamizaje fitoquímico proporcionaron la evidencia preliminar de la presencia de saponinas (posiblemente esteroidales), alcaloides y/o aminas terciarias o cuaternarias u óxidos de amina, polifenoles y probablemente cumarinas o compuestos con al menos 2 dobles enlaces conjugados (posiblemente del tipo fenilpropano).

2. INTRODUCCION:

Desde tiempos antiguos (s. VII a de JC) hasta comienzos del siglo XX, la mayoría de las drogas útiles derivaban de fuentes vegetales y sus usos terapéuticos se basaban en antiguos descubrimientos accidentales. A medida que creció la habilidad de los Químicos para sintetizar, aislar y caracterizar nuevos compuestos y que los Farmacólogos aprendieron más acerca de la acción de las drogas y los mecanismos biológicos de la salud y la enfermedad, la búsqueda de nuevas drogas tuvo una base cada vez más racional. Hoy las drogas útiles se obtienen de fuentes diversas, mediante métodos que van desde el descubrimiento fortuito o casual (con un fundamento más empírico que científico), pasando por estudios e investigaciones preliminares, hasta llegar a la obtención de dichas drogas mediante la conjunción de metodologías de investigación de química fina farmacéutica y de farmacología experimental altamente racionalizadas y plenamente sistematizadas. Dentro de este contexto, la investigación integrada fitoquímica-farmacológica de las plantas medicinales desempeña un papel esencial, pues constituye un eslabón indispensable en la larga cadena de racionalización y sistematización de la investigación de drogas de origen vegetal.

En los últimos años, la investigación y desarrollo de drogas de origen vegetal ha cobrado una especial importancia debido a la exhortación hecha por la Organización Mundial de la Salud en el sentido de que cada país utilice todos sus recursos en pro de la Atención Primaria de Salud. Haciendo eco a esto último, el desarrollo de metodologías experimentales y la evaluación y validación de las plantas medicinales guatemaltecas ha sido notable en los últimos años. Dentro de este marco, el estudio de las plantas con actividad antiinflamatoria ha cobrado especial relevancia, pues debido a que la mayoría de los medicamentos utilizados en el tratamiento de los procesos inflamatorios son de alto costo, muchas veces inaccesibles y en ocasiones sus efectos secundarios suelen ser muy severos, las drogas vegetales antiinflamatorias constituyen una alternativa viable para proporcionar a la población de escasos recursos, medicamentos accesibles, seguros y efectivos contra las afecciones inflamatorias que en un momento dado pudiesen padecer. El presente trabajo de tesis constituye un estudio fitoquímico-farmacológico integrado, y con su ejecución se ha pretendido contribuir en parte a sentar las bases para el desarrollo a mediano y largo plazo de medicamentos antiinflamatorios que puedan ser utilizados como terapias de elección en la Atención Primaria de Salud.

3. ANTECEDENTES:

3.1. Drogas Vegetales: Farmacohistoria, Farmacogeografía y Farmacoetnología:

La búsqueda de nuevos fármacos de origen vegetal ha ocupado el interés de farmacognostas y fitoquímicos por mucho tiempo. Exploraciones para recolectar especímenes vegetales, y análisis fitoquímicos, se han enfocado a la búsqueda de sustancias con posible actividad farmacológica sobre trastornos de diversa índole. La creencia falsa de que las plantas y sus productos no tienen vigencia hoy en día y que sólo interesan las sustancias sintetizadas en laboratorios, está descartada definitivamente. Los remedios nativos o caseros conocidos en la medicina folklórica, siguen vigentes; sin embargo, cuando se habla de plantas medicinales, muchos sonríen maliciosamente visualizando al brujo provinciano supersticioso, sin detenerse a pensar que la medicación naturista ha dado origen al estudio científico de las plantas medicinales. Es la naturaleza la que ha proporcionado muchos medicamentos (digoxina, colchicina, vinblastina, atropina, etc.) y sigue proporcionando el punto de partida para los futuros medicamentos (1).

La discriminación de plantas como satisfactores de las necesidades medicamentosas del hombre puede remontarse a tiempos prehistóricos con los grupos humanos de cazadores y recolectores. En los vestigios de antiguas ciudades europeas se han encontrado granos y frutos correspondientes a las edades de piedra y bronce; de excavaciones arqueológicas americanas se han recolectado restos vegetales que presumiblemente se empleaban en ceremonias religiosas (vinculados enormemente con rituales y prácticas curativas). Con el advenimiento de los tiempos históricos y la consecuente aparición de las evidencias documentales, la utilización de las plantas medicinales para aliviar o curar los sufrimientos o padecimientos del hombre ha sido amplia e inobjetable. Una gran cantidad de plantas medicinales han sido usadas por tradición en muchos grupos humanos de Alta Cultura, tales como los egipcios, babilonios, asirios, fenicios, griegos, romanos, indios, chinos y especialmente por los pueblos de la América indígena; con respecto a estos últimos, resulta anecdótico el hecho que el mismo conquistador de México Hernán Cortés pidiera al rey de España que no enviase médicos a la *Nueva España* dado que el "Arsenal terapéutico indígena era suficiente" (1, 2).

La medicina tradicional de la América indígena puede seccionarse fitogeográfica y farmacoeetnológicamente en tres grupos: a) la correspondiente a la región mesoamericana; b) la que enmarca a la región caribeña; y c) la relativa a la medicina folklórica sudamericana (ésta última representada fundamentalmente por los grupos étnicos andinos); para los propósitos del presente trabajo de tesis, reviste especial importancia el primero y el segundo de los grupos mencionados (1, 2).

La flora de las regiones mesoamericana y caribeña es muy diversa y variada. Los estudios de su uso en la medicina tradicional son muy escasos. Los estudios multidisciplinarios realizados que ayudan a conocer la etnobotánica médica de dichas regiones son:

El Atlas de la región por Morton; los trabajos sobre plantas mexicanas de Lozoya y Lozoya y el trabajo realizado por TRAMIL para una Farmacopea del Caribe. Entre los trabajos realizados en Guatemala sobre plantas medicinales se pueden mencionar, el trabajo de Dieseldorff que trata acerca de las plantas de Alta Verapaz, la revisión de la flora útil de Guatemala por Aguilar, los estudios en el altiplano por Orellana y la descripción de Ronquillo y colaboradores en el nororiente (3-9).

Durante 1980-88 CEMAT con colaboración de estudiantes de la Universidad de San Carlos de Guatemala llevaron a cabo varias encuestas etnobotánicas en el altiplano y en la región caribe del país. Los resultados de estas encuestas y la revisión de la literatura regional y local permitieron elaborar varias listas de las plantas popularmente usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones comunes de la población (10-14).

3.2. Validación farmacológica de plantas medicinales guatemaltecas:

Entre 1984-89 se realizaron varios trabajos de investigación para tamizar la actividad de las plantas más frecuentemente utilizadas en las afecciones urinarias e infecciones de la piel y mucosas, y en afecciones de los sistemas digestivo y respiratorio. El programa Universitario de Investigación a través de la DIGI financió parcialmente el tamizaje y confirmación de las propiedades antibacterianas de plantas usadas en el tratamiento de afecciones digestivas y respiratorias en 1987-89 y el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB) financió durante 1989-92 los estudios con dermatofitos. La ejecución de tesis de pregrado ha contribuido enormemente a la validación de la actividad farmacológica de plantas a las que tradicionalmente se les ha atribuido actividades diurética, analgésica, antiespasmódica, hipoglucemiante, antimicrobianas, antimicóticas, etc. (15-23).

3.3. Estudios de plantas con actividad antiinflamatoria:

3.3.1. Farmacología experimental antiinflamatoria (ver ANEXO 13.4):

La validación de la actividad antiinflamatoria de infusiones, extractos (crudos y refinados), fracciones cromatográficas y principios activos puros obtenidos de plantas medicinales convencionalmente se ha realizado mediante el método

de inducción de edema en la pata trasera de rata según Winter y colaboradores (dicho método es el adoptado y recomendado por gran cantidad de protocolos e investigadores internacionales) (24).

3.3.2. Validación de la actividad antiinflamatoria de plantas medicinales:

3.3.2.1. Antecedentes internacionales:

En tiempos recientes, el estudio de plantas y fitoconstituyentes con presunta actividad antiinflamatoria a cobrado especial auge. Especies pertenecientes a una gran diversidad de familias han sido estudiadas en todas las regiones del mundo; entre dichas especies, dada la amplitud con que han sido estudiadas y lo promisorio de los resultados obtenidos pueden mencionarse las siguientes: *Dodonaea viscosa*, *Coix lachryma-jobi*, *Ecballium elaterium*, *Buplecurum fruticosum*, *Commiphora merkeri*, *Uncaria tomentosa*, *Hydnocarpus wightiana*, *Sideritis sp.*, *Pseudopterogorgia sp.* (25-34).

Entre la diversidad de metabolitos antiinflamatorios aislados de plantas medicinales, pueden citarse los siguientes grupos de compuestos: Benzoxazinoides, Cucurbitacinas, ácidos del tipo quinovico y flavonolignanos. La mayor parte de estos compuestos pueden ser agrupados como compuestos esteroidales, triterpenoidales o flavonoidales, sin embargo, dado que la gran parte de los metabolitos secundarios tienen un origen biosintético mixto, no es conveniente clasificarlos exclusivamente dentro de alguno de esos grupos de compuestos (25-35).

Paralelamente a los estudios referentes a plantas con actividad antiinflamatoria, estudios sobre plantas con actividad analgésica han constituido un complemento necesario, pues se ha planteado la posibilidad de que metabolitos presentes en plantas analgésicas posean simultáneamente actividad antiinflamatoria demostrable (31, 36).

3.3.2.2. Antecedentes nacionales:

Con la información recopilada a través de las encuestas y estudios etnobotánicos, y con los datos recabados tanto local (Guatemala) como regionalmente (Mesoamérica), se elaboró una lista de las plantas popularmente usadas para el tratamiento de enfermedades como gastritis, hemorroides, reumatismo y procesos inflamatorios en general (37). Este listado preliminar indicó que 83 especies de plantas pertenecientes

a 49 familias se usan popularmente para el tratamiento de estas enfermedades. De este listado se seleccionaron 34 especies más frecuentemente usadas para realizar los estudios de primera fase del proyecto de investigación titulado ***Actividad Antiinflamatoria de Plantas de uso Medicinal en Guatemala***, el cual sería cofinanciado por el departamento de Farmacología de la escuela de Química Farmacéutica de la Facultad de CC. QQ. y Farmacia y la Dirección General de Investigación (DIGI) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (37, 38).

En 1990 la escuela de Química Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala adquirió un Pletismómetro digital para evaluar la actividad antiinflamatoria; iniciándose la estandarización de procedimientos *in vivo* para determinar la actividad antiinflamatoria vegetal en rata, lo cual inició la realización de tesis de pregrado, entre las cuales se pueden mencionar los trabajos realizados con las siguientes especies: *Moringa oleifera* (Paraíso blanco), *Linum usitatissimum* y *Trigonella foenumgraceum* (Fenogreco) de las cuales las dos primeras demostraron tener actividad antiinflamatoria. Durante 1990-91 se realizó el tamizaje de la actividad antiinflamatoria de ocho plantas usadas con estos fines, como fase I del proyecto ***Actividad Antiinflamatoria de Plantas de uso Medicinal en Guatemala***, el cual fué cofinanciado por las entidades anteriormente mencionadas (Depto. de Farmacología de la Esc. de QF de la Fac. de CC. QQ. y Farmacia y DIGI). Los resultados de dicha fase mostraron que la infusión acuosa (al 10 %) de corteza y hojas de *Sambucus mexicana* (Sauco) poseen actividad antiinflamatoria a dosis de 750 y 1000 mg de planta/Kg de peso; asimismo las infusiones (al 10 %) de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo), de raíz de *Petiveria alliacea* (Apacín), de hoja de *Cressentia cujete* (Morro) también poseen actividad antiinflamatoria a dosis de 750 mg/Kg de peso; las infusiones acuosas (al 10 %) de las especies restantes, *Bixa orellana* (Achiote), *Chiranthodendrum pentadactylon* (Manita), *Bursera simaruba* (Palo jiote) y *Tagetes lucida* (Pericón) no mostraron actividad antiinflamatoria significativa a 750 y 1000 mg de planta/Kg de peso (38-42).

Entre 1991-1992 se realizó una tesis de pregrado que validó la actividad antiinflamatoria del *Plantago major* (Llanten) (23).

En 1992, se realizó un trabajo de tesis que demostró que la infusión de hojas de *Tridax procumbens* (Hierba del toro) tiene actividad antiinflamatoria (43).

En 1993, se realizó una segunda fase del proyecto ***Actividad Antiinflamatoria de Plantas de uso Medicinal en Guatemala***,

también financiado por DIGI y por el Depto. de Farmacología de la Esc. de QF de la Fac. de CC. QQ. y Farmacia, determinándose que los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las plantas *Sambucus mexicana*, *Petiveria alliacea*, *Gnaphalium stramineum* y *Cressentia cujete* no son tóxicas (44).

Durante 1994, como un complemento del proyecto anteriormente citado, se planteó la ejecución de un proyecto que permitiese también la validación de la actividad analgésica de las 4 especies sometidas al estudio antiinflamatorio de fase II (*Sambucus mexicana*, *Petiveria alliacea*, *Gnaphalium stramineum* y *Cressentia cujete*) (45, 46).

Durante el año 1995, se ejecutó una nueva fase del proyecto ***Actividad Antiinflamatoria de Plantas de uso Medicinal en Guatemala***, y es dentro de ese contexto en el cual se enmarcó el presente trabajo de tesis (24, 45, 46).

4. JUSTIFICACIONES:

Los tesoros botánico y cultural de Guatemala, como lo son sus Medicinas alternativas autóctonas deben ser rescatados y revalorados. Dentro de este contexto y desde tiempo inmemorial, muchas plantas han sido empleadas para evitar y combatir casi todo tipo de padecimiento, y únicamente el auge de las drogas sintéticas determinó su declinación a mediados de este siglo. En los últimos tiempos, sin embargo, ha habido un evidente redescubrimiento del valor medicinal de las plantas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 80 % de la población de los países en desarrollo confía en los remedios tradicionales para atender sus necesidades básicas, lo que aunado a la incapacidad de los Servicios de Asistencia Pública en dichas naciones y ante la necesidad de hacer funcional y efectiva la Atención Primaria en Salud, dicha Institución (la OMS) y otras afines promueven activamente que estos países, con una riqueza en conocimientos etnobotánicos y una biodiversidad en peligro, hagan uso de tales recursos de manera que los mismos se transformen en factores de desarrollo tanto social (como en el caso de la atención sanitaria) como económico (como lo es la transformación de recursos naturales en recursos económicos no tradicionales). A esta doble perspectiva económico-social hay que incorporarle una tercera de índole conservacionista que insta al rescate de este recurso natural antes de que desaparezca junto con la selva tropical. Ante este triple enfoque resulta entonces evidente la importancia del estudio e investigación de las plantas medicinales.

Con la ejecución del presente trabajo de tesis, se pretendió sentar las bases metodológicas para llevar a cabo estudios de actividad antiinflamatoria de plantas medicinales en fase II de investigación Fitoquímica y Farmacológica integradas.

La importancia del estudio específico de plantas con actividad antiinflamatoria preliminar demostrada (en fase I) radica en que la mayoría de las medicinas utilizadas para el tratamiento de procesos inflamatorios son de alto costo, muchas veces inaccesibles y en ocasiones sus efectos secundarios suelen ser más severos que la enfermedad que se desea combatir. Con los resultados obtenidos del presente trabajo de tesis se espera que en un plazo razonable de tiempo se pueda proporcionar a la población con limitado poder adquisitivo de bienes y servicios, medicamentos accesibles, seguros y efectivos contra las afecciones inflamatorias que en un momento dado pudiesen padecer. A mediano y largo plazo, se pretende contribuir (en lo referente al campo farmacéutico) a dar respuesta positiva a la triple perspectiva económico-social-conservacionista planteada anteriormente.

5. OBJETIVOS:

5.1. Generales:

El presente trabajo contribuirá, en un plazo razonable de tiempo a:

5.1.1. Proporcionar a la población con limitado poder adquisitivo de bienes y servicios, medicamentos accesibles, seguros y efectivos contra las afecciones inflamatorias que en un momento dado pudiesen padecer (objetivo a mediano y largo plazo).

5.1.2. Contribuir (desde el punto de vista farmacéutico) a dar respuesta positiva a la triple perspectiva económico-social-conservacionista planteada en la justificación del presente trabajo de tesis.

5.2. Específicos:

Al ejecutar el presente trabajo de tesis específicamente se espera:

5.2.1. Obtener los extractos crudos de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) en gradiente de polaridad creciente (extracto hexánico, etanólico y acuoso).

5.2.2. Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos crudos obtenidos.

5.2.3. Evaluar la toxicidad (DL₅₀) de los extractos crudos obtenidos.

5.2.4. Caracterizar fitoquímicamente el extracto con mejor respuesta antiinflamatoria.

6. HIPOTESIS:

- 6.1. Por lo menos uno de los extractos crudos obtenidos a partir de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) tiene actividad antiinflamatoria demostrable en un modelo animal.
- 6.2. Los extractos crudos de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) con actividad antiinflamatoria demostrable no son tóxicos.
- 6.3. Al menos uno de los extractos crudos de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) con actividad antiinflamatoria demostrable puede ser caracterizado fitoquímicamente de una forma preliminar mediante ensayos químicos sencillos.

7. MATERIALES Y METODOS:

7.1. Universo de trabajo:

Extractos polar, medianamente polar y apolar de flores secas y molidas de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo).

7.2. Sujeto de estudio (muestra):

El material trabajado estuvo constituido por muestras mixtas colectadas al azar de especímenes de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) provenientes de poblaciones silvestres de dicha especie.

7.3. Medios:

7.3.1. Recursos humanos:

7.3.1.1. Autor de la investigación: Mynor Rolando Hernández Espina.

7.3.1.2. Asesora de tesis: Dra. Amarillis Saravia Gómez.

7.3.1.3. Coasesor fitoquímico: M. Sc. Luis Hugo Santacruz

7.3.1.4. Coasesor estadístico: Lic. Federico Nave.

7.3.1.5. Personal del Herbario de la Fac. de Agronomía (FAUSAC).

7.3.1.6. Personal de Investigación de DIGI: Licda. Lissette Madariaga.

7.3.2. Recursos materiales:

7.3.2.1. Pletismómetro Digital marca Ugo Basile, modelo 56288.

7.3.2.2. Materiales, reactivos y equipo de laboratorio:

7.3.2.2.1. Chaquetas de calentamiento para balones de 5 litros.

7.3.2.2.2. Equipo soxlhet con cámara con capacidad para 250-700 g.
(Balón de 5 litros + cámara de extracción + condensadores del sistema)

7.3.2.2.3. Equipo para reflujo (Balón de 5 litros + condensador con boquilla esmerilada).

7.3.2.2.4. Mangueras de tygon.

7.3.2.2.5. Balanza semianalítica.

7.3.2.2.6. Estufa con agitador magnético y magneto.

7.3.2.2.7. Beakers de 250 ml y 1 litro.

7.3.2.2.8. Evaporador rotatorio (Rotavapor).

7.3.2.2.9. Balones para rotavapor (1 litro y 500 ml).

7.3.2.2.10. Frascos de vidrio color ámbar.

7.3.2.2.11. Sondas orogástricas para rata y ratón.

7.3.2.2.12. Jeringas para insulina de 1 ml.

7.3.2.2.13. Suspensión de caolín al 1 %.

7.3.2.2.14. Polisorbato 80 (TWEEN 80).

- 7.3.2.2.15. Ester de sorbitán (SPAN 20).
- 7.3.2.2.16. Sacarosa.
- 7.3.2.2.17. Mezcla de hexanos.
- 7.3.2.2.18. Etanol al 80 %.
- 7.3.2.2.19. Agua destilada o desmineralizada.
- 7.3.2.2.20. Solución de fenilbutazona al 20 % (fármaco de referencia).
- 7.3.2.2.21. Cromatofolios de Silicagel F₂₅₄
- 7.3.2.2.22. Cromógenos y Lámparas de LUV y Vis para CCF.
- 7.3.2.2.23. Ratas albinas del mismo sexo con peso entre 140-170 g.
- 7.3.2.2.24. Balanza para animales.
- 7.3.2.2.25. Reactivos diversos.
- 7.3.2.2.26. Computador compatible DLC/486-40 Mhz.
- 7.3.2.2.27. Materiales de oficina.
- 7.3.2.3. Recursos institucionales: Dependencias de la Univ. de San Carlos
 - 7.3.2.3.1. Fac. de CC. QQ. y Farmacia, Escuela de Química Farmacéutica, Laboratorio de Farmacología Experimental.
 - 7.3.2.3.2. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas.
 - 7.3.2.3.3. Dirección General de Investigación.

7.4. Procedimiento y Metodologías.

- 7.4.1. Revisión bibliográfica.
- 7.4.2. Delimitación del tema de investigación.
- 7.4.3. Planificación de la investigación.
- 7.4.4. Recolección y clasificación de los especímenes vegetales silvestres.
- 7.4.5. Secado y molienda del material vegetal (47-50).
- 7.4.6. Metrología:
 - 7.4.6.1. Pesado del material sometido a la extracción.
 - 7.4.6.2. Medición de los volúmenes adecuados de los solventes extractores.
- 7.4.7. Preparación del extracto apolar: Se utilizó el esquema extractivo propuesto por I. Ciulei. Se realizó una extracción continua y exhaustiva en un aparato soxhlet, cargando la cámara extractiva del mismo con 309.7 g de flores secas y molidas de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) (51).
- 7.4.8. Reconcentración del extracto apolar: la misma se realizó en un evaporador rotatorio (rotavapor) hasta obtener un extracto pilular (48, 49).
- 7.4.9. Preparación del extracto medianamente polar: El material vegetal residual de la extracción con soxhlet, fue retirado de la cámara extractiva de

dicho aparato y fue trasladado a un balón de 5 litros para ser sometido a un reflujo con etanol al 80 % (51).

7.4.10. Reconcentración del extracto medianamente polar: la misma se realizó en un evaporador rotatorio (rotavapor) hasta obtener un extracto grado miel (48-51).

7.4.11. Preparación del extracto polar: El material vegetal residual de la extracción etanólica fue nuevamente sometido a reflujo, utilizando en esta ocasión agua desmineralizada como solvente extractor. El proceso es similar al realizado en el reflujo etanólico (51).

7.4.12. Reconcentración del extracto polar: El extracto acuoso se reconcentró de la misma forma en que se hizo para los dos anteriores, sólo que esta vez, el extracto permaneció fluido y a concentración (p/v) conocida.

7.4.13. Determinación de rendimientos: La determinación se hizo gravimétricamente y se expresó en g de extracto/ 100 g de material vegetal (48-51).

7.4.14. Formulación de extractos: Se pesaron cantidades conocidas de los extractos reconcentrados y fueron suspendidos o disueltos en agua según fuera el caso. Para los extractos insolubles en agua, se suspendieron con la ayuda de polisorbato 80 y sacarosa. Para el extracto acuoso, se utilizó el extracto fluido (cuya concentración se conocía) y fue manejado de la misma forma como que si se tratase de una infusión acuosa (52).

7.4.15. Caracterización Fitoquímica: Se realizó un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por I. Ciulei para la investigación de metabolitos secundarios (48-51).

Se utilizaron también técnicas cromatográficas (CCF) convencionales para caracterización fitoquímica preliminar. Debido a que el extracto etanólico fue el que mejor respuesta antiinflamatoria presentó, el tamizaje fitoquímico fue realizado únicamente a dicho extracto.

7.4.15.1. Ensayos macro y semimicro:

7.4.15.1.1. Investigación de taninos: 1 g del extracto etanólico reconcentrado fue disuelto en 20 ml de agua desmineralizada caliente y la suspensión obtenida fue filtrada. Al filtrado obtenido se le agregaron 4 gotas de solución de NaCl al 10 % y se filtro nuevamente. El filtrado recuperado fue entonces dividido en 4 tubos de ensayo, en donde se realizaron las pruebas correspondientes, de la manera siguiente:

Al tubo No. 1 no se le agregó reactivo alguno (tubo testigo).

Al tubo No. 2 se le añadieron 5 gotas de solución de gelatina al 1 %.

Al tubo No. 3 se le agregaron 5 gotas del reactivo NaCl-gelatina.

Al tubo No. 4 se le añadieron 3 gotas de solución de FeCl₃ al 10 %.

Seguidamente y durante 1 hora se observaron cambios de coloración, turbidez o formación de precipitados.

7.4.15.1.2. Investigación de Alcaloides: 1 g del extracto etanólico fue tratado con solución de hidróxido de amonio al 10 % (2 gotas) y seguidamente se le añadieron 25 ml de metanol a 65 °C. Posteriormente la solución fue filtrada y el filtrado fue acidificado con HCl 2 N. La solución resultante fue entonces dividida en 4 tubos de ensayo, y fueron evaluados de la manera siguiente:

Tubo No. 1: No se le agregó reactivo alguno. Testigo, control negativo.

Tubo No. 2: Se le agregaron 5 gotas del reactivo de Dragendorff.

Tubo No. 3: Se le agregaron 5 gotas del reactivo de Mayer.

Tubo No. 4: Se le agregaron 5 gotas del reactivo de Wagner.

Se corrieron además, controles positivos con soluciones al 1 % de Atropina y Papaverina. Seguidamente y durante 2 horas se observaron cambios en la turbidez y/o precipitación de complejos en los tubos.

7.4.15.1.3. Investigación de Flavonoides: 5 g del extracto etanólico fueron hidrolizados con HCl 2N mediante reflujo y calentamiento durante media hora. Seguidamente, el extracto hidrolizado resultante fue partido con dietiléter y la fase etérica reconcentrada. Una parte (4 ml) de la solución etérica fue reconcentrada a sequedad, redisuelta en etanol al 80 % y dividida en 4 tubos de ensayo. Los tubos fueron tratados y evaluados de la manera siguiente:

Tubo No. 1: No se le agregó reactivo alguno. Testigo.

Tubo No. 2: Se le agregó Mg metálico y tres gotas de HCl concentrado.

Tubo No. 3: Se le añadieron 3 gotas ácido sulfúrico concentrado.

Tubo No. 4: Se le agregaron 3 gotas de cloruro férrico al 10 %.

A dos tubos, identificados con los Nos. 5 y 6, se les añadieron 3 ml de la fase acuosa acidificada resultante de la partición con dietiléter. Al tubo 6, se le añadieron además gotas de NaOH 0.5 N para alcalinizar hasta pH=9-10.

Seguidamente se evaluaron reacciones y cambios en la coloración de los mismos (comparados contra el testigo).

7.4.15.1.4. Investigación de saponinas: 0.5 g de extracto etanólico fueron tratados con 10 ml de agua desmineralizada y la suspensión obtenida fue agitada vigorosamente. Se observó si la espuma formada era persistente por más de media hora.

7.4.15.2. Cromatografía en capa fina:

Utilizando cromatofolios de silicagel F₂₅₄ se corrieron cromatografías del extracto etanólico (reconcentrado y redissuelto en metanol), de la solución metanólica amoniacal obtenida según el inciso 7.4.15.1.2. del presente informe, y la fase etérica del extracto hidrolizado obtenido según el inciso 7.4.15.1.3.

7.4.15.2.1. Extracto etanólico:

7.4.15.2.1.1. Fase móvil: Acetato de etilo-metanol-agua (100: 13.5:10). Resolución ascendente.

7.4.15.2.1.2. Visualización de manchas:

7.4.15.2.1.2.1. Medios físicos:

- Luz visible.
- LUV a 254 y 365 nm

7.4.15.2.1.2.2. Rectivos cromógenos:

- Vainillina-ácido sulfúrico.
- Anisaldehído-ácido sulfúrico.
- FeCl₃ al 1 % etanólico.
- Liebermann-Burchard.
- SbCl₅ en CHCl₃
- Dragendorff.

7.4.15.2.2. Extracto etanólico (+ NH₄OH al 10 % + metanol):

7.4.15.2.2.1. Fase móvil: Acetato de etilo-metanol-agua (100: 13.5:10).

7.4.15.2.2.2. Visualización de manchas:

7.4.15.2.2.2.1. Medios físicos:

- Luz visible.
- LUV a 254 y 365 nm

7.4.15.2.2.2.2. Rectivos cromógenos:

- Dragendorff.

7.4.15.2.3. Extracto etanólico (+HCl+dietiléter+ metanol):

7.4.15.2.3.1. Resolución: Bidimensional (S1 y S2).

7.4.15.2.3.1.2. S1: ascendente múltiple.

7.4.15.2.3.1.3. S2: ascendente simple.

7.4.15.2.3.2. Fase móvil:

7.4.15.2.3.2.1. S1: CHCl₃

7.4.15.2.3.2.2. S2: CHCl₃-metanol (9:1).

7.4.15.2.3.3. Visualización: Sólo medios físicos (LUV y Vis).

7.4.16. Farmacología experimental:

7.4.16.1. Ensayo antiinflamatorio:

Para la demostración de la actividad antiinflamatoria se usó el método de inducción de edema en la pata trasera de rata según Winter y colaboradores. Se ensayaron 6 dosis diferentes de cada extracto: 100, 120, 140, 160, 180 y 200 mg/Kg de peso; 1 dosis con un fármaco de referencia como control positivo (Fenilbutazona 150 mg/kg de peso) y un grupo blanco como control negativo al que únicamente se le administró agua o el vehículo acuoso en el que se suspendieron los extractos insolubles en agua. Las dosis que se administraron fueron equivalentes para cada extracto, de manera que se pudiera comparar la potencia de cada uno de ellos y establecer de esta forma diferencias entre los mismos¹. La administración se hizo por vía oral con una sonda orogástrica (24). A los treinta minutos de la administración orogástrica de cada formulación o sustancia ensayada (6 dosis de extracto + 1 dosis del fármaco de referencia + agua para el grupo blanco), se aplicó 0.1 g de caolín al 1 % en agua por inyección subcutánea en la región subplantar de la pata izquierda posterior. El edema producido se cuantificó mediante un ple-tismómetro digital (Ugo Basile/Italia) midiendo el volumen de la pata antes de la inyección y después de 1, 3 y 5 horas. Cada tratamiento se ensayó en 4 ratas por día en tres en días diferentes (24). El porcentaje de inflamación para cada tratamiento y cada hora en que se determina se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inflamación para el tratamiento } Y = 100 * (V_x - V_n) / V_n$$

Donde:

Y = tratamiento (que es cada uno de los 8 propuestos)

V_x = Volumen de la pata a la hora x (donde x = 1, 3 ó 5 horas)

V_n = Volumen de la pata antes de la inyección (24).

¹ El establecer diferencia entre los extractos permite que en primera instancia, se pueda seleccionar para un estudio de fase III (fraccionamiento cromatográfico) al extracto que muestre actividad antiinflamatoria significativa, si es que sólo uno de los tres tiene dicha actividad, o en última instancia, seleccionar al más potente de los evaluados, si es que más de uno posee actividad farmacológica significativa, en este último caso, el extracto más potente es el que se somete al estudio de fase III.

7.4.16.2. Ensayo toxicológico: Los estudios toxicológicos (DL₅₀) se realizaron desde el principio para garantizar que se estuviera trabajando con extractos inocuos. Se trabajó con lotes de cinco ratones cada uno, con un peso entre 30 y 35 gramos, a los cuales se les administraron 5 dosis de cada extracto: 10, 20, 40, 180 y 320 mg/Kg de peso (44-47).

Se tomó un período de ocho días para observar desde pequeños cambios en el comportamiento de los animales hasta la muerte, que en caso de poseer toxicidad aguda, sería observada. Si al término de ese tiempo los ratones continuaban sin presentar cambio alguno, los extractos se considerarían inocuos a las dosis ensayadas (44-47).

7.4.17. Diseño experimental:

El diseño utilizado fue uno de bloques completos aleatorizados con 4 tratamientos, desarrollándose de la siguiente manera:

7.4.17.1. Dosis de extracto ensayadas: se ensayaron 6 dosis de cada extracto: 100, 120, 140, 160, 180 y 200 mg/Kg de peso. Se hicieron apareamientos de dosis de la manera siguiente: 100-120 (pareja X₁), 140-160 (pareja X₂) y 180-200 (pareja X₃) (24, 44-46).

7.4.17.2. Integración del diseño:

El diseño estuvo integrado por 4 tratamientos y 3 bloques, de acuerdo a las siguientes consideraciones:

7.4.17.2.1. Tratamientos: Los tratamientos fueron:

- Un control negativo (grupo blanco) al que únicamente se le administró un vehículo acuoso o agua según fuera el caso.
- Un control positivo (fármaco de referencia) al que se le administró Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.
- Un grupo al que se le administró la dosis 1 de la pareja X_n.
- Un grupo al que se le administró la dosis 2 de la pareja X_n.

Donde la pareja X_{11} fue cada uno de los 3 apareamientos de dosis señalados en el inciso 7.4.17.1. del presente informe de tesis (parejas $X_1 X_2 X_3$).

Lo anterior implica que para cada extracto el diseño se repitió 3 veces (una para cada pareja X de dos dosis cada una) (53).

7.4.17.2.2. Bloques: los tratamientos fueron evaluados en 3 días diferentes y cada día constituyó un bloque del diseño, lo que implica que existieran 3 bloques en total (día 1, día 2, día 3 = bloque 1, bloque 2, bloque 3) (53).

7.4.17.2.3. Repeticiones por tratamiento (n_j):

Para valores de $\alpha = 0.05$ y $\beta = 0.2$ se tiene un nivel de confianza (NC) igual a:

$$NC = Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}$$

$$NC = 2.49 + 0.842$$

$$NC = 3.332$$

lo que implica que el número de ensayos a realizar por tratamiento (n_j) debería ser mayor o igual a:

$$\frac{2 NC^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

Donde se desconoce la varianza σ^2 y se asume que el límite de error $\Delta = 2 \sigma$, por lo que entonces $\Delta^2 = 4 \sigma^2$, por lo tanto:

$$n_j = \frac{2 (3.332)^2 \sigma^2}{4 \sigma^2}$$

$$n_j = \frac{2 (3.332)^2}{4}$$

$$n_j = 5.55$$

que aproximado, da un valor $n_j = 6$

que es el valor mínimo de repeticiones que debieron realizarse para cada tratamiento (54).

Dado lo anterior, se decidió que en el presente diseño experimental debían realizarse 4 repeticiones o replicas por bloque, lo que da un valor n_j igual a:

$$n_j = \# \text{ Bloques} \times \# \text{ de Replicas} = 3 \times 4 = 12$$

Que es el número total de repeticiones que se realizaron por tratamiento, lo que cumple con que n_j sea mayor ó igual a 6 (53, 54).

7.4.17.3. Análisis estadístico:

Con los datos obtenidos se elaboró una curva de porcentaje de inflamación versus tiempo, y se calculó mediante integración numérica (método trapecial) el área bajo la curva como variable de respuesta. Con las áreas obtenidas para cada tratamiento, se realizó la prueba de ANDEVA de dos vías y al establecer diferencia entre los tratamientos, se realizó la prueba de Dunnett para evaluar el efecto antiinflamatorio de los tratamientos frente al control negativo (53, 54).

7.4.17.4. Instrumentos para registrar las observaciones:

Se utilizaron cuadernos foliados por páginas, en las cuales se llevó el registro cronológico de las actividades realizadas y los resultados obtenidos. Los resultados fueron tabulados en un sistema columnar, ordenados de acuerdo a conveniencia y procesados electrónicamente. Los resultados fueron organizados, resumidos y presentados mediante estadística descriptiva y fueron analizados e interpretados mediante técnicas de inferencia estadística (45, 46, 53, 54).

8. RESULTADOS:

8.1. Rendimientos extractivos:

TABLA No. 1

	EXTRACTOS		
	Hexánico	Etanólico	Acuoso
Material vegetal inicial (gramos)	309.7		
Extracto obtenido (gramos)	8.16	46.5	19.67
Rendimiento porcentual (p/p)	2.63 %	15.01 %	6.35 %

8.2. Farmacología Experimental:

8.2.1. Ensayo toxicológico:

Se evaluó la DL₅₀ de cada uno de los extractos obtenidos en ratones albinos de 30-35 g de peso.

No se observaron cambios en el comportamiento de los animales de experimentación a dosis de 10, 20, 40, 180 y 320 mg de cada extracto/Kg de peso. No se observó tampoco muerte alguna en ninguno de los lotes de los animales de experimentación.

DL₅₀ es por lo tanto mayor que 320 mg/Kg de peso para cada extracto evaluado.

8.2.2. Ensayo antiinflamatorio:

Ver tablas y gráficas siguientes.

Para las mismas,

X= horas a las cuales se realizaron las lecturas de % de inflamación.

Y_n= % de inflamación observado en la rata n, del día correspondiente.

TABLA No. 2

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXÁNICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	37	70	61	57	25	26	25	24	14	20	22	17
3	64	76	92	85	68	71	72	75	50	40	41	38
5	68	91	98	98	78	80	79	82	69	68	70	73
Área bajo la curva=	233	313	343	326	239	248	248	266	183	168	174	166

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	35	26	40	33	33	36	38	35	17	20	15	20
3	37	37	41	38	35	38	42	40	35	36	32	30
5	40	38	41	40	34	37	39	41	35	32	30	27
Área bajo la curva=	149	138	163	149	137	149	161	166	122	124	109	107

Tratamiento: Dosis 1 de extracto Hexánico= 100 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	40	43	44	41	40	42	41	38	21	18	21	20
3	49	55	60	61	55	60	65	68	39	36	47	48
5	60	79	85	95	70	69	85	86	69	70	75	73
Área bajo la curva=	198	232	249	258	220	231	256	260	168	160	190	189

Tratamiento: Dosis 2 de extracto Hexánico= 120 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	35	40	43	41	40	42	45	51	21	19	25	26
3	58	79	80	85	55	62	53	59	48	49	55	56
5	78	78	94	95	70	75	68	73	77	70	69	71
Área bajo la curva=	229	276	297	306	220	241	219	242	194	187	204	209

TABLA No. 3

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXÁNICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de inflamación versus tiempo.

Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Hexánico		
Días	Rafa No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 1 100 mg/Kg	Dosis 2 120 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	233	149	198	229	241.13
	2	313	138	232	276	
	3	343	163	249	297	
	4	325	149	258	306	
Bloque 2 (Día 1)	1	239	137	220	220	217.69
	2	248	149	231	241	
	3	248	161	256	219	
	4	256	156	260	242	
Bloque 3 (Día 1)	1	183	122	168	194	165.88
	2	168	124	160	187	
	3	174	109	190	204	
	4	166	107	189	209	
Promedio de tratamientos		241.33	138.67	217.58	235.33	PROMEDIO TOTAL= 208.23
Desviación estandar de tratamientos		61.67	19.28	35.71	39.07	
Coficiente de Variación de tratamientos		25.56	13.91	16.41	16.60	

TABLA No. 4

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	81083.56	27027.85	38.75	2.84
Bloques	2	47447.54	23723.77	34.01	3.23
Error	42	29297.37	697.56		
TOTAL	47	157828.48			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 5

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Hexánico de flores de *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 100 y 120 mg/Kg de peso

COMPARACIONES	Xi-Xc	Xi-Xc	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-102.67	102.67	26.63	p<0.05
Extracto 100 mg/Kg de peso contra el control (-)	-23.75	23.75	26.63	NS
Extracto 120 mg/Kg de peso contra el control (-)	-6.00	6.00	26.63	NS

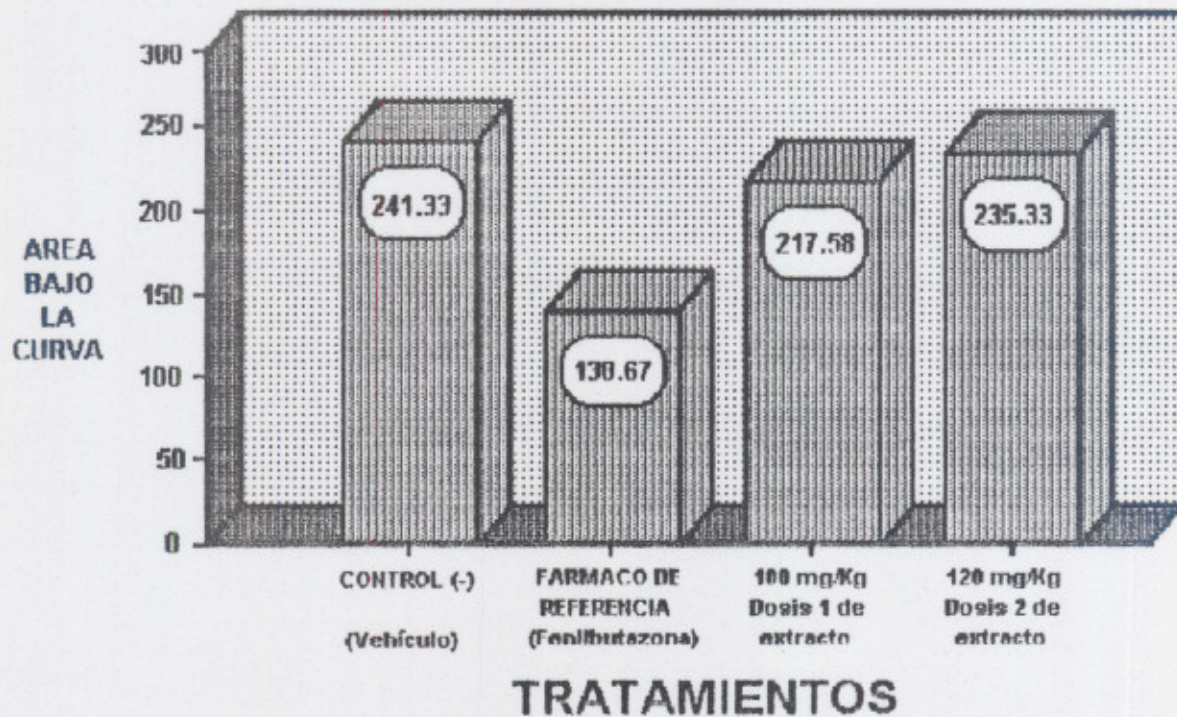
Como únicamente $102.67 > 26.63$, se concluye que sólo hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y el grupo del fármaco de referencia. En otras palabras, sólo el tratamiento con fenilbutazona mostró actividad antiinflamatoria significativa.

GRAFICA No. 1

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



GRAFICA No. 2

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

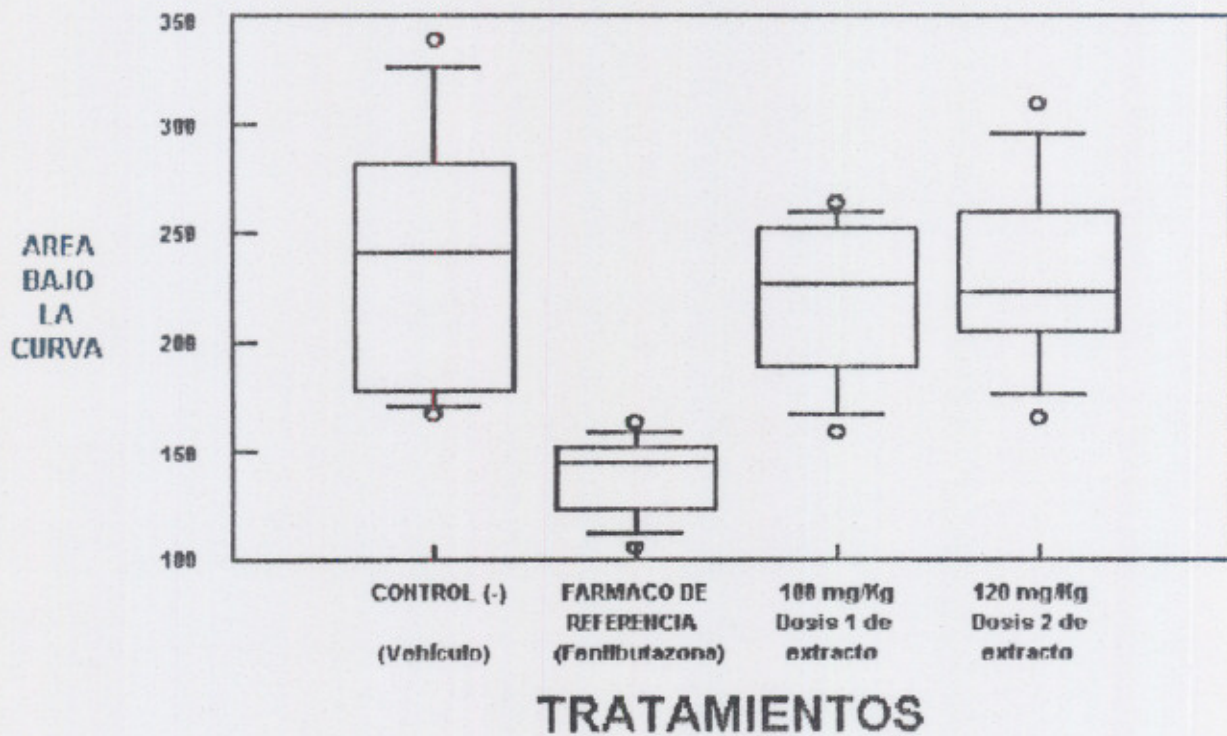


TABLA No. 6

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	23	25	27	22	14	12	16	15	21	22	25	27
3	40	45	51	45	40	36	41	37	42	45	46	50
5	70	75	76	70	76	72	81	68	78	72	75	80
Área bajo la curva=	173	190	205	182	170	156	179	157	183	184	192	207

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	33	25	22	20	20	18	22	21	20	18	22	25
3	33	20	24	22	23	22	25	24	25	24	26	27
5	12	21	23	25	25	23	26	25	22	22	25	26
Área bajo la curva=	111	86	93	89	91	85	98	94	92	88	99	105

Tratamiento: Dosis 3 de extracto Hexánico= 140 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	28	21	22	26	18	20	23	19	18	20	22	23
3	41	40	43	51	42	45	46	40	38	35	42	45
5	65	70	68	69	70	75	81	69	68	72	75	69
Área bajo la curva=	175	171	176	197	172	185	196	168	162	162	181	182

Tratamiento: Dosis 4 de extracto Hexánico= 160 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	25	26	24	21	23	26	25	20	35	32	40	30
3	40	39	42	41	38	39	42	45	52	62	55	56
5	70	81	75	72	76	71	73	68	85	78	80	77
Área bajo la curva=	175	185	183	175	175	175	182	178	224	234	230	219

TABLA No. 7

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de inflamación versus tiempo.

Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Hexánico		
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 3 140 mg/Kg	Dosis 4 160 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	173	111	175	175	160.38
	2	190	86	171	185	
	3	205	93	176	183	
	4	182	89	197	175	
Bloque 2 (Día 1)	1	170	91	172	175	153.81
	2	156	85	185	175	
	3	179	98	196	182	
	4	157	94	168	178	
Bloque 3 (Día 1)	1	183	92	162	224	171.50
	2	184	88	162	234	
	3	192	99	181	230	
	4	207	105	182	219	
Promedio de tratamientos		181.50	94.25	177.25		PROMEDIO TOTAL= 161.90
Desviación estandar de tratamientos		16.11	7.81	11.53		
Coficiente de Variación de tratamientos		8.88	8.28	6.50		

TABLA No. 8

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	75174.06	25058.02	118.36	2.84
Bloques	2	2558.29	1279.15	6.04	3.23
Error	42	8892.13	211.72		
TOTAL	47	86624.48			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 9

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Hexánico de flores de *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 140 y 160 mg/Kg de peso

COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-87.25	87.25	14.67	$p < 0.05$
Extracto 140 mg/Kg de peso contra el control (-)	-4.25	4.25	14.67	NS
Extracto 160 mg/Kg de peso contra el control (-)	13.08	13.08	14.67	NS

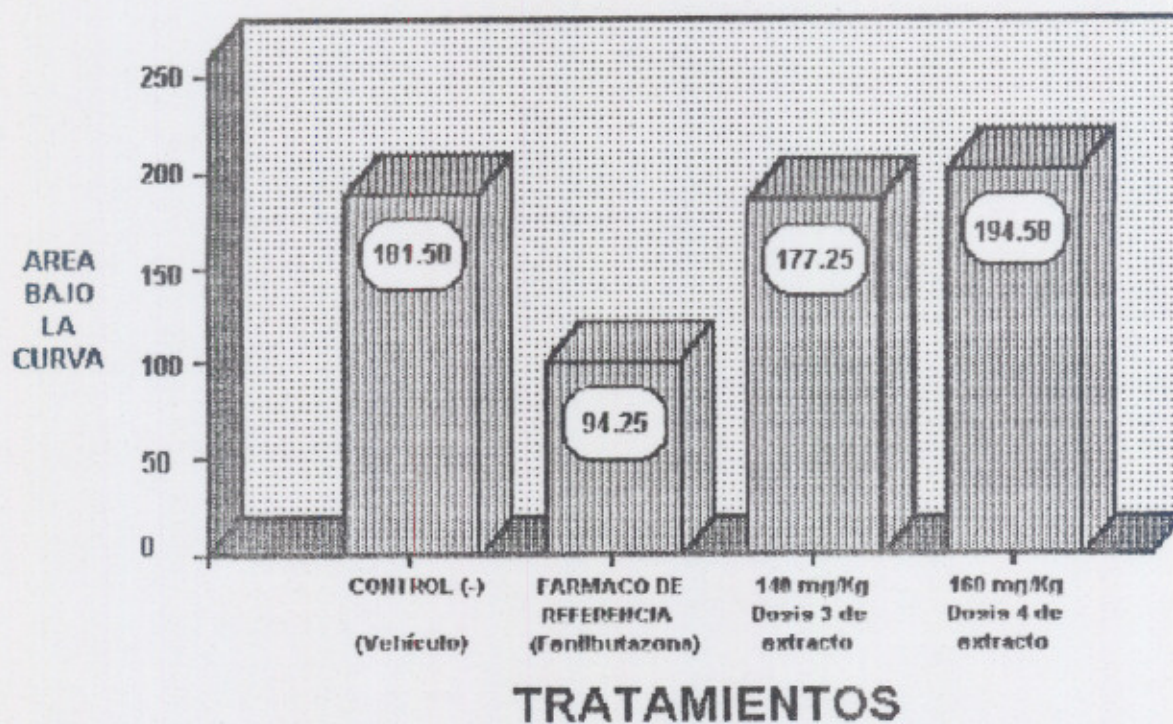
Como únicamente $87.25 > 14.67$, se concluye que sólo hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y el grupo del fármaco de referencia. En otras palabras, sólo el tratamiento con fenilbutazona mostró actividad antiinflamatoria.

GRAFICA No. 3

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



GRAFICA No. 4

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

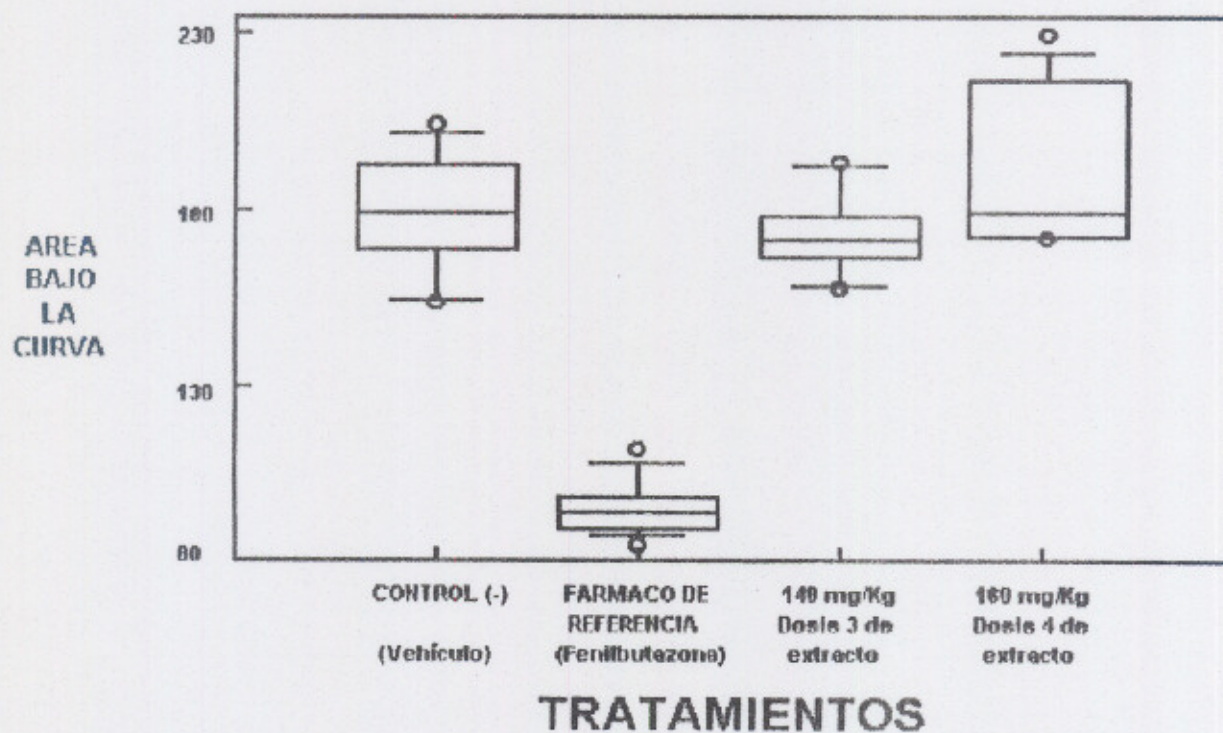


TABLA No. 10
TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso
 Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	27	29	25	23	20	24	19	23	21	20	19	22
3	27	30	35	28	25	26	27	29	23	21	23	25
5	38	37	39	32	30	32	33	35	32	29	32	33
Área bajo la curva=	119	126	134	111	100	108	106	116	99	91	97	105

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	30	25	22	20	30	31	25	22	19	20	22	18
3	25	18	12	15	25	23	22	20	15	17	20	22
5	15	12	10	13	20	19	21	20	15	17	19	20
Área bajo la curva=	95	73	56	63	100	96	90	82	64	71	81	82

Tratamiento: Dosis 5 de extracto Hexánico= 180 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	34	31	24	21	25	27	20	23	20	23	21	23
3	28	26	15	19	27	30	25	27	25	25	23	26
5	20	26	15	14	25	26	21	20	27	30	29	31
Área bajo la curva=	110	109	69	73	104	113	91	97	97	103	96	106

Tratamiento: Dosis 6 de extracto Hexánico= 200 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	28	20	17	22	25	20	23	22	19	17	20	25
3	28	20	16	27	28	25	27	30	23	23	24	26
5	17	11	9	20	20	22	20	19	23	21	22	24
Área bajo la curva=	101	71	58	96	101	92	97	101	88	84	90	101

TABLA No. 11

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Inflamación versus tiempo.

**Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.**

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Hexánico		
Días	Reta No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 5 180 mg/Kg	Dosis 6 200 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	119	95	110	101	91.50
	2	126	73	109	71	
	3	134	56	69	58	
	4	11	63	73	96	
Bloque 2 (Día 1)	1	100	100	104	101	99.63
	2	108	96	113	92	
	3	106	90	91	97	
	4	116	82	97	101	
Bloque 3 (Día 1)	1	99	64	97	88	90.94
	2	91	71	103	84	
	3	97	81	96	90	
	4	105	82	106	101	
Promedio de tratamientos		109.33	79.42	97.33	90.00	PROMEDIO TOTAL= 94.02
Desviación estandar de tratamientos		12.58	14.26	13.92	13.48	
Coficiente de Variación de tratamientos		11.51	17.96	14.30	14.97	

TABLA No. 12

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	5698.73	1899.58	10.85	2.84
Bloques	2	756.29	378.15	2.16	3.23
Error	42	7349.96	175		
TOTAL	47	13804.98			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 13

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Hexánico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 180 y 200 mg/Kg de peso

COMPARACIONES	XI-Xc	XI-Xc	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-29.92	29.92	13.34	p<0.05
Extracto 180 mg/Kg de peso contra el control (-)	-12.00	12.00	13.34	NS
Extracto 200 mg/Kg de peso contra el control (-)	-19.33	19.33	13.34	p<0.05

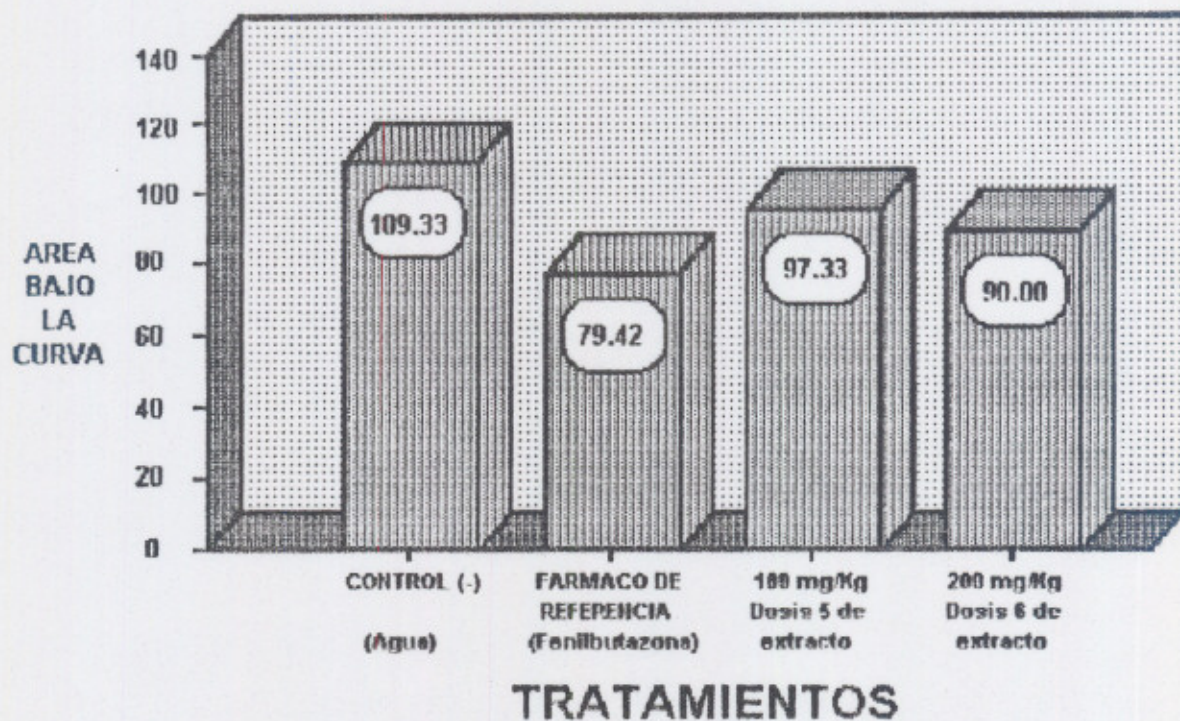
Como $29.92 > 13.34$ y $19.33 > 13.34$, se concluye que hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y los grupos del fármaco de referencia y la dosis de 200 mg de extracto/Kg de peso. En otras palabras, el tratamiento con fenilbutazona y el tratamiento con extracto Hexánico de flores de *Gnaphallium stramineum* a dosis de 200 mg/Kg de peso si poseen actividad antiinflamatoria significativa.

GRAFICA No. 5

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



GRAFICA No. 6

EXTRACTO HEXANICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

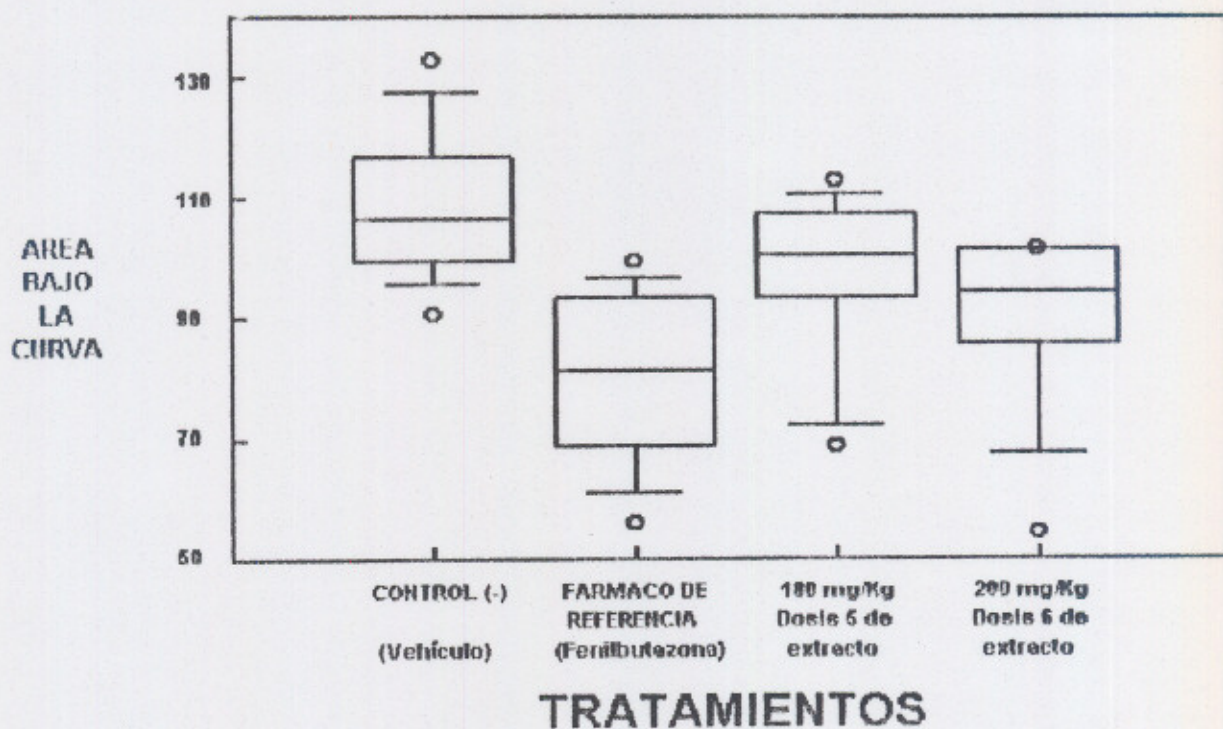


TABLA No. 14

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	25	25	30	21	11	10	18	10	25	19	19	17
3	31	35	36	32	17	17	27	18	34	35	24	30
5	40	41	50	38	33	34	38	32	38	40	40	42
Arca bajo la curva=	127	136	152	123	78	78	110	78	131	129	107	119

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	28	26	22	30	20	30	15	20	30	25	30	27
3	30	25	20	29	23	26	20	10	30	18	22	18
5	31	26	20	27	20	20	16	10	18	17	20	11
Arca bajo la curva=	119	102	82	115	86	102	71	50	108	78	94	74

Tratamiento: Dosis 1 de extracto Etanólico= 100 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	8	25	20	19	15	32	23	30	34	30	29	35
3	12	35	32	32	10	26	16	25	45	30	32	40
5	13	40	35	36	10	18	16	25	35	32	20	36
Arca bajo la curva=	45	135	119	119	45	102	71	105	159	122	113	151

Tratamiento: Dosis 2 de extracto Etanólico= 120 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	10	28	22	25	11	37	14	20	20	30	21	27
3	23	35	18	20	10	30	20	25	25	24	27	28
5	20	24	12	16	10	20	35	26	27	23	22	23
Arca bajo la curva=	76	122	70	81	41	117	79	96	97	101	97	106

TABLA No. 15

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Inflamación versus tiempo.

**Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.**

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Etanólico		
Días	Rala No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 1 100 mg/Kg	Dosis 2 120 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	127	119	45	76	107.69
	2	136	102	135	122	
	3	152	82	119	70	
	4	123	115	119	81	
Bloque 2 (Día 1)	1	78	86	45	41	81.81
	2	78	102	102	117	
	3	110	71	71	79	
	4	78	50	105	96	
Bloque 3 (Día 1)	1	131	108	159	97	111.63
	2	129	78	122	101	
	3	107	94	113	97	
	4	119	74	151	106	
Promedio de tratamientos		114.00	90.08	107.17	90.25	PROMEDIO TOTAL= 100.38
Desviación estandar de tratamientos		24.62	20.30	36.91	22.28	
Coficiente de Variación de tratamientos		21.60	22.54	34.44	24.69	

TABLA No. 16

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	5282.42	1760.81	3.18	2.84
Bloques	2	8393.63	4196.81	7.58	3.23
Error	42	23259.21	553.79		
TOTAL	47	36935.25			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 17

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 100 y 120 mg/Kg de peso

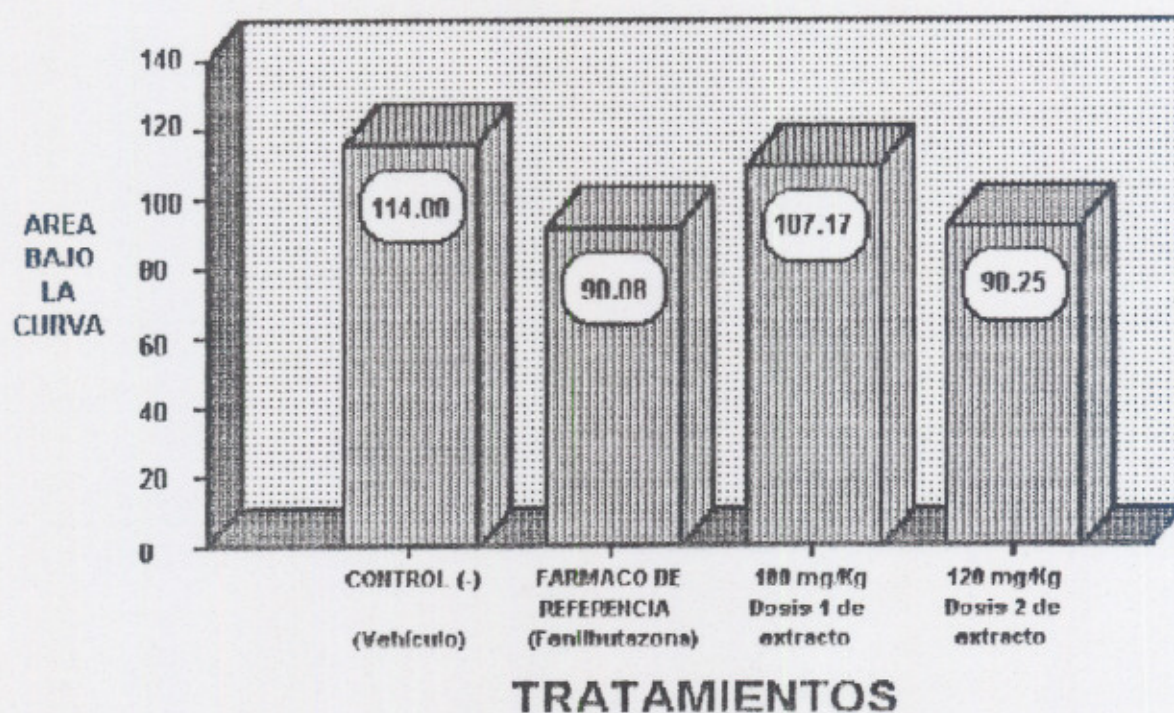
COMPARACIONES	XI-Xc	XI-Xc	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-23.92	23.92	23.73	p<0.05
Extracto 100 mg/Kg de peso contra el control (-)	-6.83	6.83	23.73	NS
Extracto 120 mg/Kg de peso contra el control (-)	-23.75	23.75	23.73	p<0.05

Dado que $23.92 > 23.73$ y $23.75 > 23.73$, se podría inferir que hay diferencia significativa entre los grupos del fármaco de referencia y la dosis de 120 mg/Kg de peso del extracto etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* con respecto al control negativo. Sin embargo, dada la proximidad evidente entre el valor 23.75 y 23.73, se podrían considerar iguales, por lo que no es posible concluir que haya actividad antiinflamatoria significativa del extracto etanólico a dicha dosis. Es conveniente por lo tanto considerar los resultados obtenidos para las dosis de 140 y 160 para llegar a una conclusión definitiva (ver resultados de las tablas 18, 19, 20 y 21).

GRAFICA No. 7

EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

GRAFICA No. 8

EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

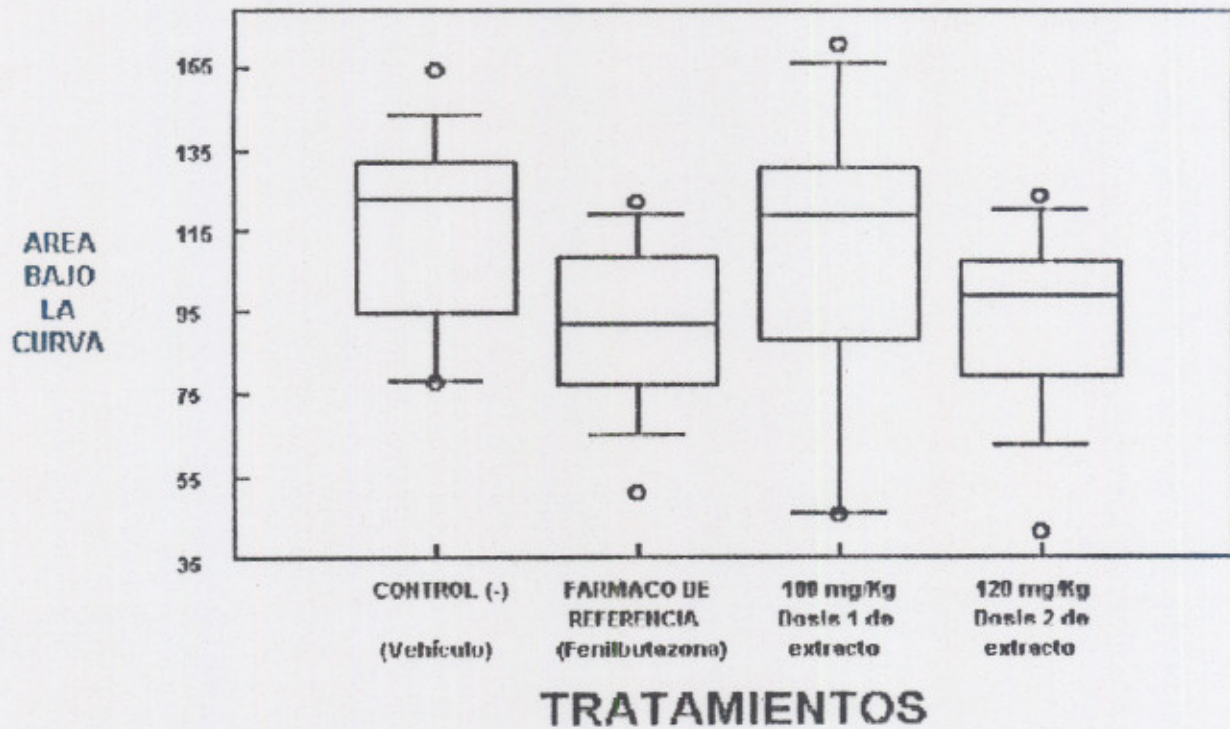


TABLA No. 18

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	17	30	30	31	22	23	28	21	23	24	21	30
3	33	42	45	43	28	23	26	26	30	33	37	35
5	40	45	50	53	46	38	42	40	50	45	45	45
Arca bajo la curva=	123	159	170	170	124	107	122	113	133	135	140	145

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	33	23	30	27	29	26	28	21	30	27	24	31
3	33	18	20	20	33	20	20	11	26	23	22	25
5	17	10	10	10	20	19	18	10	18	15	17	21
Arca bajo la curva=	116	69	80	77	115	85	86	53	100	88	85	102

Tratamiento: Dosis 3 de extracto Etanólico= 140 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	32	16	18	40	22	21	17	22	31	25	32	24
3	27	16	28	50	18	17	20	20	30	23	25	24
5	27	13	13	42	11	17	25	13	30	23	24	23
Arca bajo la curva=	113	61	87	182	69	72	82	75	121	94	106	95

Tratamiento: Dosis 4 de extracto Etanólico= 160 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	23	20	20	21	24	22	20	20	35	34	32	33
3	31	25	28	25	27	19	33	20	32	33	25	32
5	25	25	30	28	25	23	25	20	32	31	23	30
Arca bajo la curva=	110	95	106	99	103	83	111	80	131	131	105	127

TABLA No. 19

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de inflamación versus tiempo.

Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Etanólico		
Días	Rafa No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 160 mg/Kg	Dosis 3 140 mg/Kg	Dosis 4 160 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	123	116	113	110	113.56
	2	159	69	61	95	
	3	170	80	87	106	
	4	170	77	182	99	
Bloque 2 (Día 1)	1	124	115	69	103	92.50
	2	107	85	72	83	
	3	122	86	82	111	
	4	113	53	75	80	
Bloque 3 (Día 1)	1	133	100	121	131	114.88
	2	135	88	94	131	
	3	140	85	106	105	
	4	145	102	95	127	
Promedio de tratamientos		136.75	88.00	96.42	106.75	PROMEDIO TOTAL= 106.98
Desviación estandar de tratamientos		20.93	18.21	32.56	16.82	
Coficiente de Variación de tratamientos		15.31	20.69	33.77	15.75	

TABLA No. 20

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	16297.56	5432.52	12.54	2.84
Bloques	2	5045.29	2522.65	5.82	3.23
Error	42	18192.12	433.15		
TOTAL	47	39534.98			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 21

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 140 y 160 mg/Kg de peso

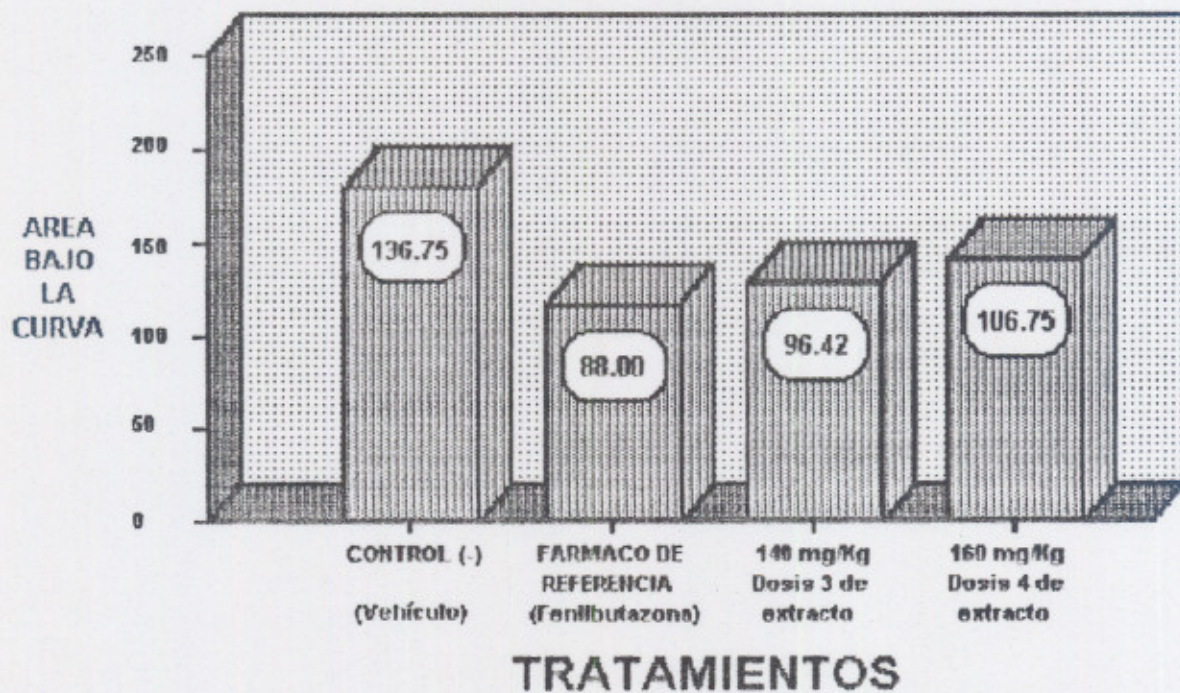
COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-48.75	48.75	20.99	$p < 0.05$
Extracto 140 mg/Kg de peso contra el control (-)	-40.33	40.33	20.99	$p < 0.05$
Extracto 160 mg/Kg de peso contra el control (-)	-30.00	30.00	20.99	$p < 0.05$

Como $48.75 > 20.99$, $40.33 > 20.99$ y $30.00 > 20.99$ se concluye que hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y los demás tratamientos. En otras palabras, el extracto etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 140 y 160 mg/Kg de peso.

GRAFICA No. 9

EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

GRAFICA No. 10

EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

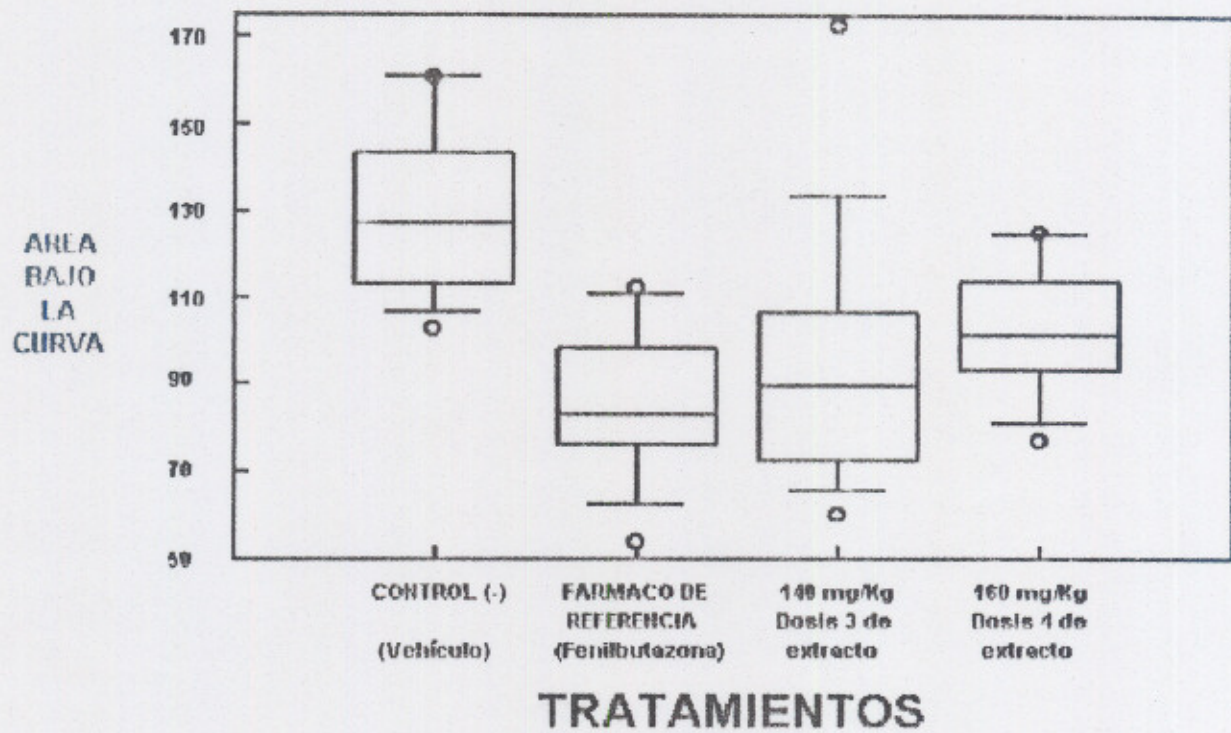


TABLA No. 22

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	25	30	32	27	11	25	30	20	20	22	20	22
3	30	35	36	35	22	30	34	27	23	25	24	30
5	37	35	37	36	35	38	40	35	30	35	42	38
Arca bajo la curva=	122	135	141	133	90	123	138	109	96	107	110	120

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	20	25	28	23	15	16	20	18	24	29	15	26
3	10	12	15	15	20	19	21	20	25	31	22	30
5	8	5	5	6	10	15	16	18	24	16	12	26
Arca bajo la curva=	48	54	63	59	65	69	78	76	98	107	71	112

Tratamiento: Dosis 5 de extracto Etanólico= 180 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	23	42	30	35	20	15	27	15	23	27	28	30
3	15	20	15	17	28	18	30	19	21	26	30	35
5	13	20	14	17	25	18	27	22	25	30	30	32
Arca bajo la curva=	66	102	74	86	101	69	114	75	90	109	118	132

Tratamiento: Dosis 6 de extracto Etanólico= 200 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	25	21	32	24	28	25	29	22	20	18	16	21
3	15	17	15	12	30	27	30	25	21	24	22	23
5	15	17	14	12	27	23	26	25	22	25	25	28
Arca bajo la curva=	70	72	76	60	115	102	115	97	84	91	85	95

TABLA No. 23

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Inflamación versus tiempo.

Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Etanólico		
Días	Rafa No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 5 100 mg/Kg	Dosis 6 200 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	122	48	66	70	85.06
	2	135	54	102	72	
	3	141	63	74	76	
	4	133	59	86	60	
Bloque 2 (Día 1)	1	90	65	101	115	96.00
	2	123	69	69	102	
	3	138	78	114	115	
	4	109	76	75	97	
Bloque 3 (Día 1)	1	96	98	90	84	101.56
	2	107	107	109	91	
	3	110	71	118	85	
	4	120	112	132	95	
Promedio de tratamientos		118.67	75.00	94.67	88.50	PROMEDIO TOTAL= 94.21
Desviación estandar de tratamientos		16.56	20.57	21.33	17.38	
Coficiente de Variación de tratamientos		13.96	27.43	22.53	19.64	

TABLA No. 24

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ETANOLICO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	11999.58	3999.86	12.23	2.84
Bloques	2	2255.04	1127.52	3.45	3.23
Error	42	13741.29	327.17		
TOTAL	47	27995.92			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 25

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 180 y 200 mg/Kg de peso

COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-43.67	43.67	18.24	$p < 0.05$
Extracto 180 mg/Kg de peso contra el control (-)	-24.00	24.00	18.24	$p < 0.05$
Extracto 200 mg/Kg de peso contra el control (-)	-30.17	30.17	18.24	$p < 0.05$

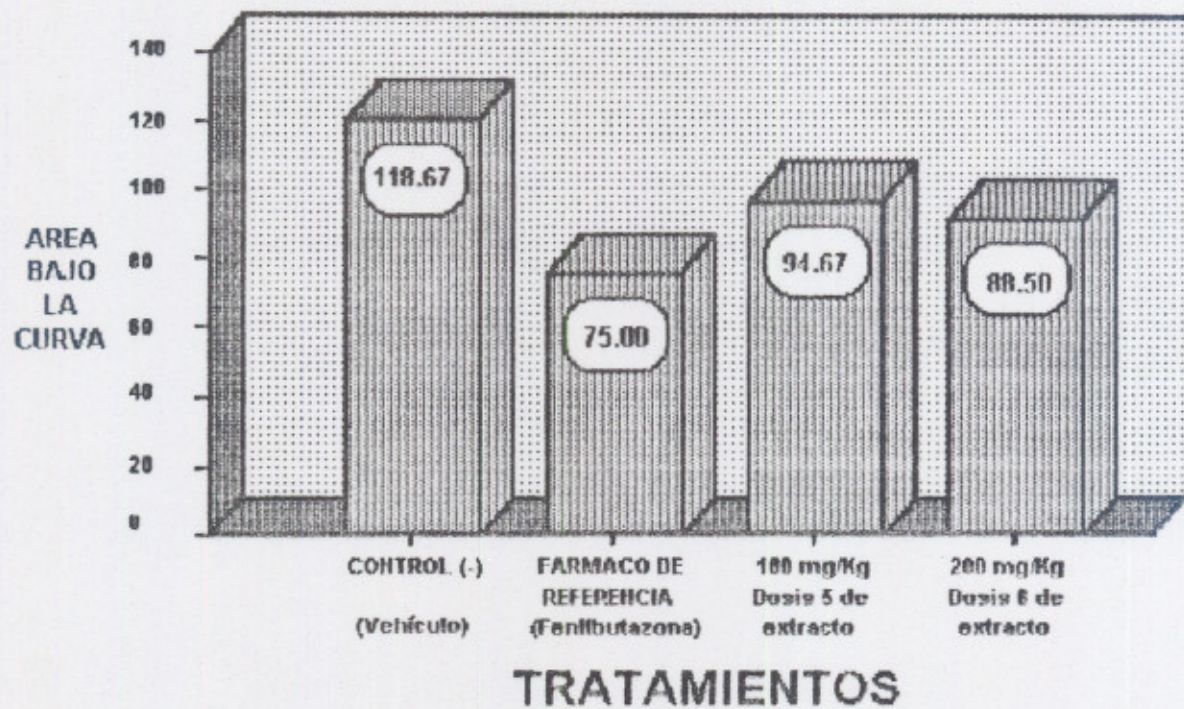
Como $43.67 > 18.24$, $24.00 > 18.24$ y $30.17 > 18.24$ se concluye que hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y los demás grupos. En otras palabras, el extracto etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 180 y 200 mg/Kg de peso.

GRAFICA No. 11

EXTRACTO HEXÁNICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



GRAFICA No. 12

EXTRACTO HEXÁNICO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

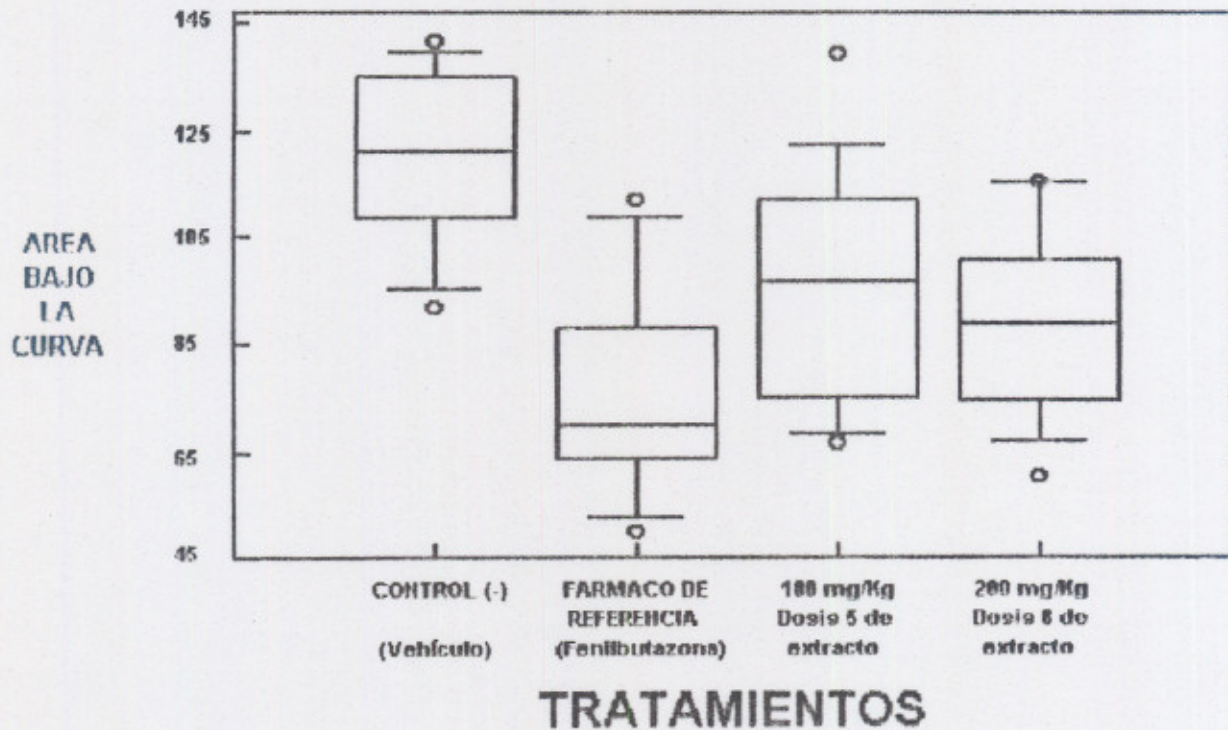


TABLA No. 26

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Graphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	14	21	21	11	24	38	18	18	30	18	35	29
3	27	28	38	18	36	62	30	42	51	33	60	36
5	36	39	54	29	50	70	39	57	60	42	69	45
Área bajo la curva=	104	116	151	76	146	232	117	159	192	126	224	146

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	17	12	18	13	27	27	22	14	15	30	24	17
3	22	35	32	29	27	23	24	9	12	23	24	7
5	17	28	18	15	18	10	22	4	6	20	14	6
Área bajo la curva=	78	110	100	86	99	83	92	36	45	96	86	37

Tratamiento: Dosis 1 de extracto Acuoso= 100 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	19	20	33	27	21	16	20	19	29	24	33	26
3	35	34	61	48	36	31	48	35	53	47	40	39
5	44	48	78	57	52	44	56	47	60	52	50	56
Área bajo la curva=	133	136	233	180	145	122	172	136	195	170	163	160

Tratamiento: Dosis 2 de extracto Acuoso= 120 mg /Kg de peso.												
X	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	18	18	11	13	33	41	21	18	18	30	17	20
3	25	27	20	22	46	53	31	27	18	45	36	28
5	38	42	28	28	65	65	41	40	32	55	46	37
Área bajo la curva=	106	114	79	85	190	212	124	112	86	175	135	113

TABLA No. 27

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de inflamación versus tiempo.

Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Acuoso		
Días	Rafa No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 1 100 mg/Kg	Dosis 2 120 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	104	78	133	106	117.94
	2	116	110	136	114	
	3	151	100	233	79	
	4	76	86	180	85	
Bloque 2 (Día 1)	1	146	99	145	190	136.06
	2	232	83	122	212	
	3	117	92	172	124	
	4	159	36	136	112	
Bloque 3 (Día 1)	1	192	45	195	86	134.31
	2	126	96	170	175	
	3	224	86	163	135	
	4	146	37	160	113	
Promedio de tratamientos		149.08	79.00	162.08	127.58	PROMEDIO TOTAL= 33.71
Desviación estandar de tratamientos		47.18	25.48	31.20	43.01	
Coficiente de Variación de tratamientos		31.64	32.26	19.25	33.71	

TABLA No. 28

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 100 Y 120 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	47989.06	15996.35	11.30	2.84
Bloques	2	3198.50	1599.25	1.13	3.23
Error	42	59478.25	1416.15		
TOTAL	47	110665.81			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 29

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 100 y 120 mg/Kg de peso

COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-70.08	70.08	37.95	$p < 0.05$
Extracto 100 mg/Kg de peso contra el control (-)	13.00	13.00	37.95	NS
Extracto 120 mg/Kg de peso contra el control (-)	-21.50	21.50	37.95	NS

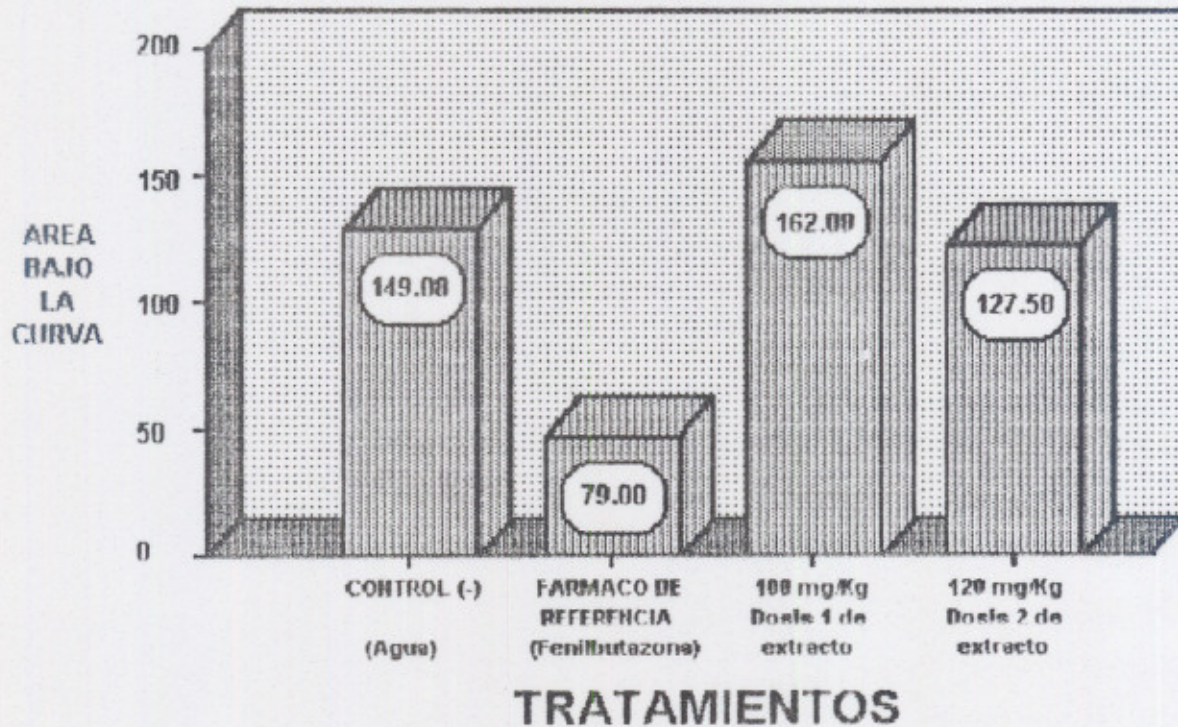
Como únicamente $70.08 > 37.95$ se concluye que únicamente hay diferencia significativa entre el grupo control negativo y el grupo del fármaco de referencia. En otras palabras, el extracto acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* no posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 100 y 120 mg/Kg de peso.

GRAFICA No. 13

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



GRAFICA No. 14

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 1 y 2 (100 y 120 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

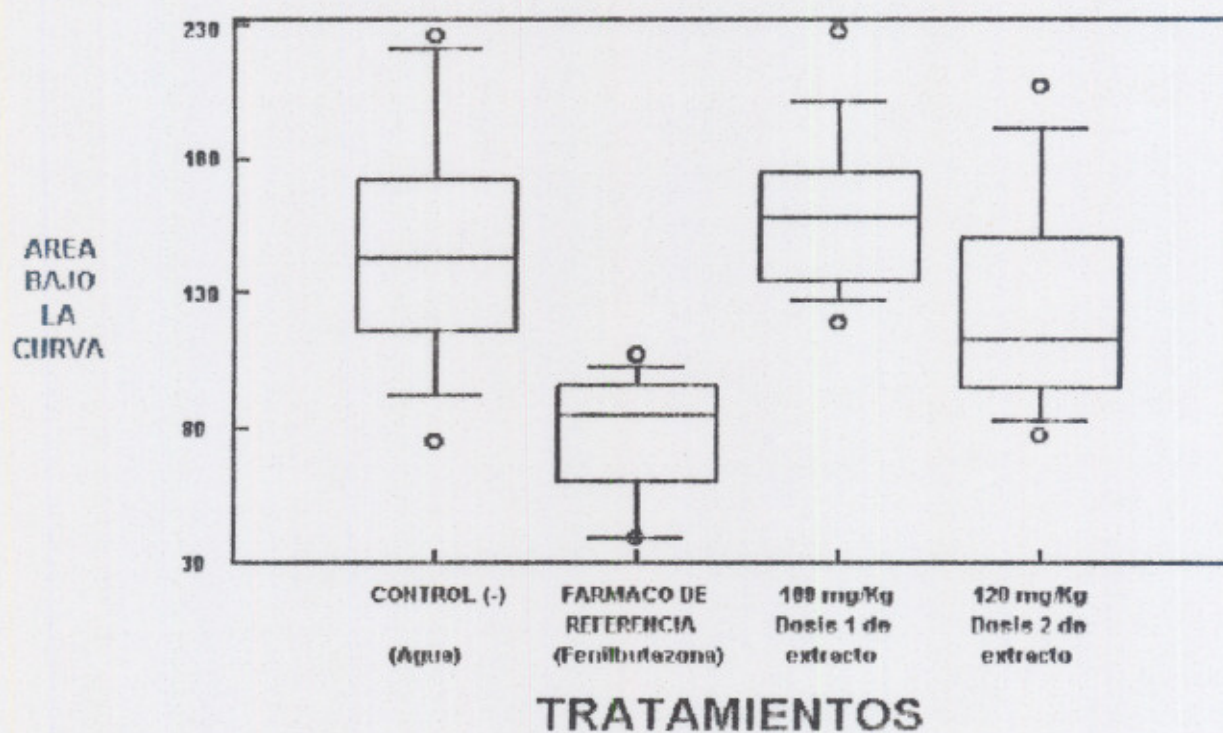


TABLA No. 30
TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES
DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	22	24	14	23	24	21	27	13	34	21	22	15
3	41	37	23	36	33	33	44	24	55	31	33	46
5	43	44	40	44	55	50	65	38	60	40	39	52
Arca bajo la curva=	147	142	100	139	145	137	180	99	204	123	127	159

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	14	18	12	13	15	15	17	27	22	13	8	23
3	23	11	10	10	19	10	16	23	13	9	8	18
5	15	11	10	6	17	8	10	13	13	9	12	18
Arca bajo la curva=	75	51	42	39	70	43	59	86	61	40	38	77

Tratamiento: Dosis 3 de extracto Acuoso= 140 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	38	40	20	21	22	26	24	26	19	29	33	28
3	49	45	41	31	36	36	41	44	42	51	71	35
5	60	60	46	45	46	51	52	55	43	53	76	44
Arca bajo la curva=	196	190	148	128	140	149	158	169	146	184	249	142

Tratamiento: Dosis 4 de extracto Acuoso= 160 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	38	26	40	27	18	9	13	27	27	26	29	23
3	49	42	55	49	37	26	36	44	51	35	29	40
5	62	50	70	59	45	32	42	53	58	35	38	49
Arca bajo la curva=	198	160	220	184	137	93	127	168	187	131	125	152

TABLA No. 31

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Inflamación versus tiempo.

**Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.**

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Acuoso		
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 3 140 mg/Kg	Dosis 4 160 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	147	75	196	198	134.94
	2	142	51	190	160	
	3	100	42	148	220	
	4	139	39	128	184	
Bloque 2 (Día 1)	1	145	70	140	137	122.50
	2	137	43	149	93	
	3	180	59	158	127	
	4	99	86	169	168	
Bloque 3 (Día 1)	1	204	61	146	187	133.94
	2	123	40	184	131	
	3	127	36	249	125	
	4	159	77	142	152	
Promedio de tratamientos		141.83	56.58	155.58	156.83	PROMEDIO TOTAL= 130.46
Desviación estandar de tratamientos		29.91	17.22	33.67	36.34	
Coficiente de Variación de tratamientos		21.09	30.44	20.21	23.17	

TABLA No. 32

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 140 Y 160 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	91050.75	30350.25	33.04	2.84
Bloques	2	1528.04	764.02	0.83	3.23
Error	42	38575.12	918.46		
TOTAL	47	131153.92			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 33

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 140 y 160 mg/Kg de peso

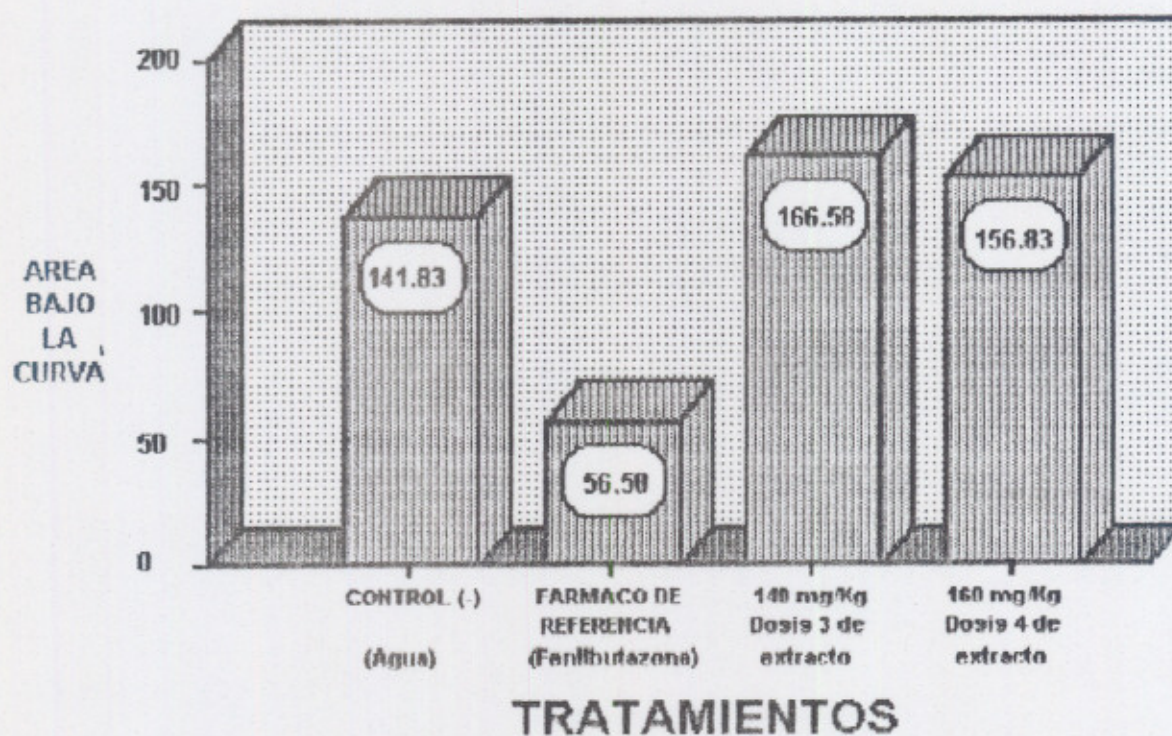
COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-85.25	85.25	30.56	$p < 0.05$
Extracto 140 mg/Kg de peso contra el control (-)	24.75	24.75	30.56	NS
Extracto 160 mg/Kg de peso contra el control (-)	15.00	15.00	30.56	NS

Como $85.25 > 30.56$ se concluye que únicamente hay diferencia significativa entre el control negativo y el grupo del fármaco de referencia. En otras palabras, el extracto acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* no tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 140 y 160 mg/Kg de peso.

GRAFICA No. 15

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

GRAFICA No. 16

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 3 y 4 (140 y 160 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCION DE LOS VALORES MAXIMOS, MINIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

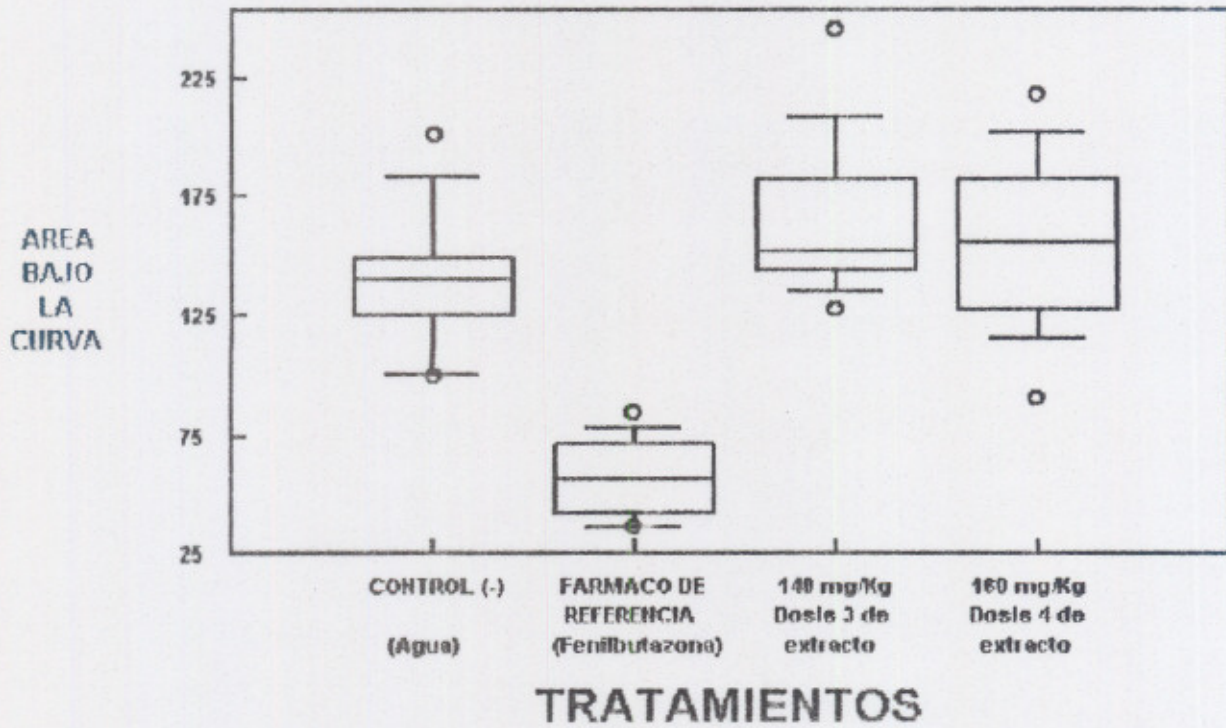


TABLA No. 34
TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES
DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso
Valores de porcentajes de inflamación versus tiempo y áreas bajo la curva formada por dichos valores

Tratamiento: Control (-): Vehículo acuoso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	56	44	50	48	27	25	18	20	20	20	19	30
3	70	48	63	58	33	34	32	34	30	38	28	43
5	70	48	64	67	42	43	41	45	42	45	33	50
Área bajo la curva=	266	188	240	231	135	136	123	133	122	141	108	166

Tratamiento: Control (+): Fármaco de Referencia. Fenilbutazona a dosis de 150 mg/Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	12	12	7	8	11	18	17	13	11	9	11	11
3	11	8	6	9	11	14	13	6	17	5	5	15
5	11	5	5	8	3	12	10	4	8	4	5	7
Área bajo la curva=	45	33	24	34	36	58	53	29	53	23	26	48

Tratamiento: Dosis 5 de extracto Acuoso= 180 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	40	32	38	39	15	9	11	10	26	25	30	37
3	70	55	57	48	35	25	27	27	47	37	44	47
5	75	56	60	57	42	30	32	30	58	46	48	58
Área bajo la curva=	255	198	212	192	127	89	97	94	178	145	166	189

Tratamiento: Dosis 6 de extracto Acuoso= 200 mg /Kg de peso.												
	Día No. 1				Día No. 2				Día No. 3			
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4
1	50	60	50	20	17	17	18	23	21	27	20	19
3	76	65	57	32	29	30	35	33	43	39	40	40
5	76	70	61	40	36	37	45	40	45	46	48	50
Área bajo la curva=	278	260	225	124	111	114	133	129	152	151	148	149

TABLA No. 35

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

Variable de respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Inflamación versus tiempo.

**Diseño de Bloques completos aleatorizados:
4 tratamientos, 3 bloques y 4 réplicas por bloque.**

BLOQUES	REPLICAS	TRATAMIENTOS				Promedio de Bloques (Días)
		Control (-)	Control (+)	Extracto Acuoso		
Días	Rafa No.	Vehiculo acuoso	Fenilbutazona 150 mg/Kg	Dosis 5 180 mg/Kg	Dosis 8 200 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	266	45	255	278	175.31
	2	188	33	198	260	
	3	240	24	212	225	
	4	231	34	192	124	
Bloque 2 (Día 1)	1	135	36	127	111	99.81
	2	136	58	89	114	
	3	123	53	97	133	
	4	133	29	94	129	
Bloque 3 (Día 1)	1	122	53	178	152	122.81
	2	141	23	145	151	
	3	108	26	166	148	
	4	166	48	189	149	
Promedio de tratamientos		165.75	38.50	161.83	164.50	PROMEDIO TOTAL= 132.65
Desviación estandar de tratamientos		53.01	12.38	52.26	57.06	
Coficiente de Variación de tratamientos		31.98	32.17	32.29	34.69	

TABLA No. 36

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL (-), FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) A DOSIS DE 180 Y 200 mg/Kg de peso

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_1 : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	RV=Fcalculado	Fcrítico
Tratamientos	3	141911.06	47303.69	39.32	2.84
Bloques	2	47922.67	23961.33	19.92	3.23
Error	42	50529.25	1203.08		
TOTAL	47	240362.98			

Como el Fcalculado (RV) > que el Fcrítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 37

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el control negativo.

Tratamientos a comparar contra el Control (-): FARMACO DE REFERENCIA (Fenilbutazona) y extracto Acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) a dosis de 180 y 200 mg/Kg de peso

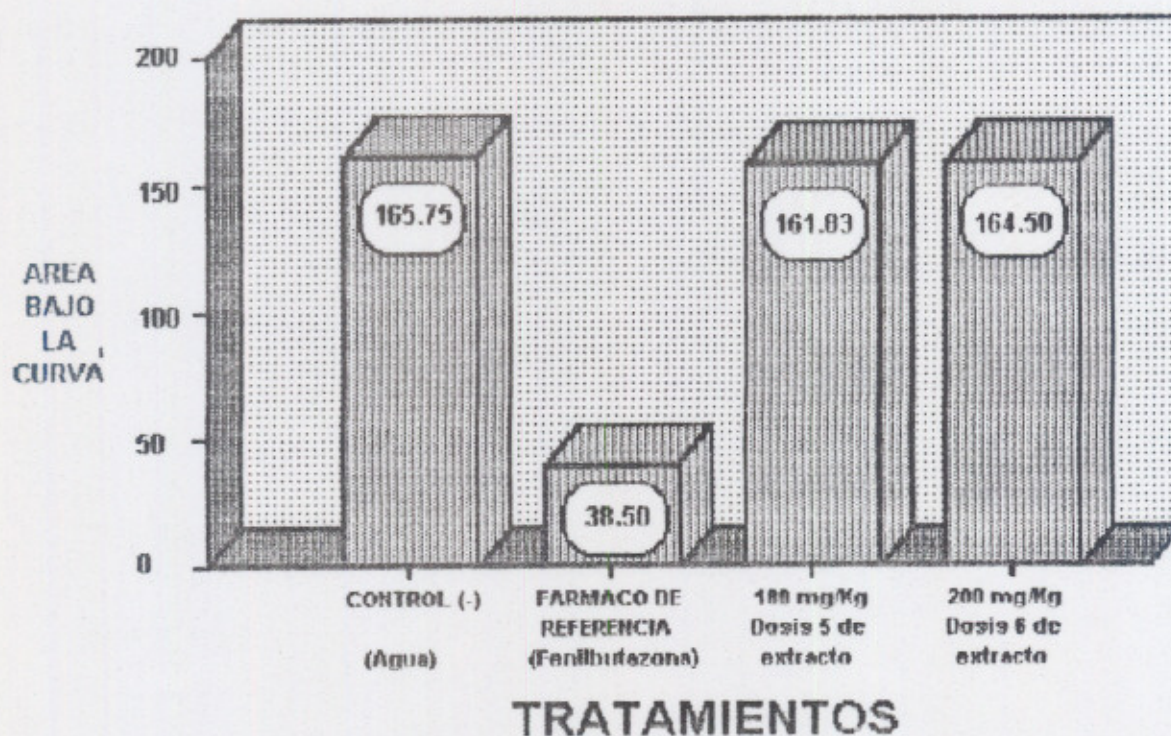
COMPARACIONES	$X_i - X_c$	$ X_i - X_c $	Diferencia crítica	Nivel de Significancia
Fenilbutazona contra el control (-)	-127.25	127.25	34.98	$p < 0.05$
Extracto 180 mg/Kg de peso contra el control (-)	-3.92	3.92	34.98	NS
Extracto 200 mg/Kg de peso contra el control (-)	-1.25	1.25	34.98	NS

Como $127.25 > 34.98$ se concluye que únicamente hay diferencia significativa entre el control negativo y el grupo del fármaco de referencia. En otras palabras, el extracto acuoso de flores de *Gnaphallium stramineum* no tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 180 y 200 mg/Kg de peso.

GRAFICA No. 17

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

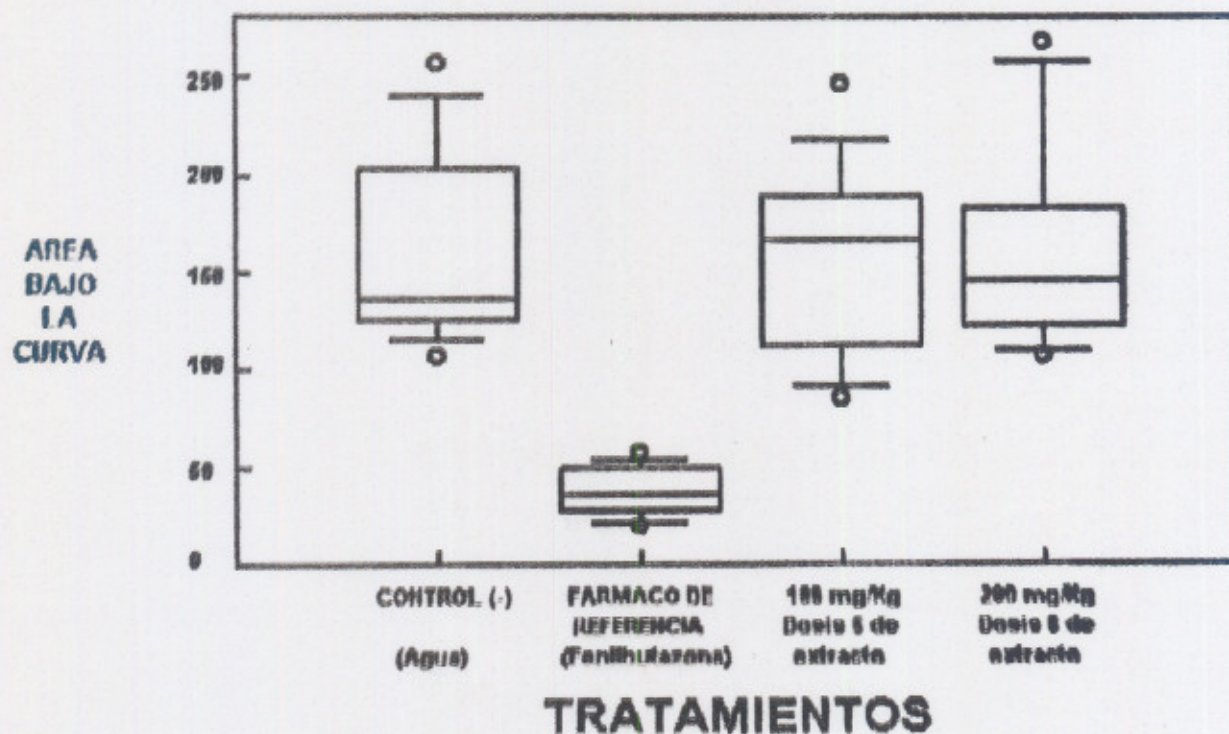
VALORES PROMEDIO DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)

GRAFICA No. 18

EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Gnaphallum stramineum* (Sanalotodo)

Comparación de las dosis 5 y 6 (180 y 200 mg/Kg de peso) del extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES 10, 25, 50, 75 y 90 DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación versus tiempo)



8.3. Tamizaje fitoquímico:

8.3.1. Ensayos macro y semimicro:

TABLA No. 38
Investigación de Taninos
Extracto Etanólico de Flores de *Gnaphallum stramineum*

Tubo No.	Reactivo de prueba	Resultado
1	Ninguno	Testigo
2	Gelatina al 1 %	No hubo precipitado alguno
3	Reactivo NaCl-gelatina	No hubo precipitado alguno
4	FeCl ₃ al 10 %	Coloración grisáceo-verdosa

TABLA No. 39
Investigación de Alcaloides
Extracto Etanólico (+ NH₄OH +Metanol) de Flores de *Gnaphallum stramineum*
Reacciones de Precipitación

Muestra	REACTIVO DE PRECIPITADOR			
	Ninguno	Dragendorff	Mayer	Wagner
Extracto	-	-	-	+
Sol. Atropina	-	-	-	+++
Sol. Papaverina	-	-	+++	+++

Clave: (-) Ausencia de precipitado.

(+) Presencia de turbidez o precipitado en cantidades perceptibles al comparar contra el testigo.

(++) Presencia de precipitado en cantidades apreciables.

(+++) Presencia evidente y abundante de precipitado.

TABLA No. 40
Investigación de Flavonoides y Antocianinas
Extracto Etanólico (+ HCl + partición con dietiléter)
de Flores de *Gnaphallum stramineum*

Tubo No.	Reactivo de prueba	Resultado
1	Ninguno	Testigo
2	Mg +HCl (Test de Shibata)	No se desarrolló ninguna coloración diferente a la del testigo
3	H ₂ SO ₄	No se desarrolló ninguna coloración diferente a la del testigo
4	FeCl ₃ al 10 %	Coloración verde
5	Fase acuosa acidificada resultante de la partición con dietiléter	Coloración rojo vino tinto.
6	Fase acuosa (tubo 5) alcalinizada.	La solución se tornó café amarillento.

TABLA No. 41
Investigación de Saponinas
Extracto Etanólico de Flores de *Gnaphallum stramineum*

Test de espuma	Se formó una espuma persistente por 4 horas
----------------	---

8.3.2. Cromatografía en Capa Fina:

8.3.2.1. Extracto etanólico (Cromatografía directa).

TABLA No. 42
Cromatografía en Capa Fina
Extracto Etanólico de Flores de *Gnaphallum stramineum*
Fase móvil: Acetato de etilo-Metanol-Agua (100:13.5:10)

MEDIO VISUALIZADOR									
Rf	Medios Físicos			Agentes Cromógenos					
	Luz Visible	LUV 254 nm	LUV 365 nm	Vainilina- H ₂ SO ₄	Anhidruído - H ₂ SO ₄	FeCl ₃ al 1%	Reac. Dragendorff	Liebermann- Burchard	SbCl ₃
0.96			azul						
0.93		gris							
0.83		gris		amarillo	naranja			naranja	
0.74						Marrón- grisáceo	naranja		
0.58					rojo-violáceo				
0.52					rojo-violáceo				
0.46				violeta			naranja		
0.37	amarillo	gris		naranja	amarillo	marrón	naranja- oscuro	pardo- verdoso	verde- amarillento
0.33		gris							
0.15	amarillo	gris		café- amarillento	Naranja claro	azul- grisáceo		gris	Marrón- grisáceo
0.05	Naranja- amarillento			Naranja		azul- grisáceo		marrón	pardo- oscuro
0.00	Amarillo oscuro	gris		Naranja- amarillento	Marrón- grisáceo	Café	Marrón	café- grisáceo	marrón

Se corrieron controles de atropina (Rf=0.0), papaverina (Rf=0.89) e hidrocortisona (Rf=0.80). La papaverina y la atropina dieron coloraciones naranja con el reactivo de Dragendorff y la hidrocortisona dió una coloración marrón-verdosa con el reactivo de Liebermann-Burchard.

8.3.2.2. Extracto etanólico amoniacoal.

Se confirmaron los resultados obtenidos para las manchas observadas a nivel de $R_f = 0.74, 0.46$ y 0.37 .

8.3.2.3. Extracto etanólico hidrolizado con HCl. Fase extraída con dietiléter.

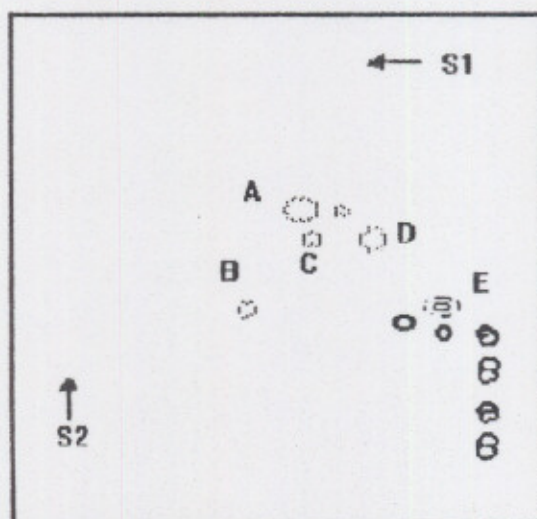
FIGURA No.1

Cromatografía bidimensional del extracto hidrolizado con HCl

Fase móvil S1= Cloroformo (desarrollo por alcance múltiple)

Fase móvil S2= Cloroformo-Metanol (9:1) (desarrollo simple)

Visualización: LUV 365 nm



Las manchas A-D Fluorescen de color azul y la E de color azul-verdoso.

9. DISCUSION:

9.1. Farmacología Experimental:

9.1.1. Ensayo toxicológico:

Dado que no se observaron cambios en el comportamiento ni muerte en los animales de experimentación, se infiere que los extractos no son tóxicos a dosis menores de 320 mg/Kg de peso, por lo que se pueden ensayar farmacológicamente dosis comprendidas entre 1 y 320 mg/Kg de peso de dichos extractos. Como consecuencia de lo anterior, la DL_{50} para cada extracto es mayor de 320 mg/Kg de peso.

9.1.2. Ensayo antiinflamatorio:

9.1.2.1. Extracto Hexánico:

Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto no posee actividad antiinflamatoria a dosis de 100, 120, 140, 160 y 180 mg/Kg de peso (Tablas Nos. 2-13, Gráficas Nos. 1-6). A dosis de 200 mg/Kg de peso se comienza a observar actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa (Tablas Nos. 10-13, Gráficas Nos 5 y 6), posiblemente debida a que mediante cosolubilidad en el extracto hexánico se hayan extraído cantidades bajas del principal principio activo responsable de dicha actividad antiinflamatoria (que es mayormente extraído en el extracto etanólico).

9.1.2.2. Extracto Etanólico:

Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto no posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 100 mg/Kg de peso y dudosa actividad a 120 mg/Kg de peso (Tablas Nos. 14-17, Gráficas Nos. 7 y 8). A dosis de 140, 160, 180 y 200 mg/Kg de peso se observa que dicho extracto tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa (Tablas Nos. 18-25, Gráficas Nos. 9-12) y dado que la misma se obtuvo a una menor dosis que la observada con la máxima dosis del extracto hexánico, se infiere que el extracto etanólico es más potente que el extracto hexánico y al mismo tiempo se deduce que el principal principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria es mayormente extraído en el extracto etanólico.

9.1.2.3. Extracto Acuoso:

El extracto acuoso no mostró actividad antiinflamatoria a ninguna de las dosis ensayadas (100, 120, 140, 160, 180 y 200 mg/Kg de peso), por lo que se descarta la presencia en el mismo del principal principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria (Tablas Nos. 26-37, Gráficas Nos. 13-18).

9.2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico:

9.2.1. Ensayos macro y semimicro:

9.2.1.1. Investigación de taninos (Tabla No. 38):

Debido a que no se observó la formación de precipitado alguno con los reactivos de gelatina y sal-gelatina, se descarta la presencia de taninos, sin embargo, debido a que el resultado obtenido con el reactivo de cloruro férrico resultó ser positivo para compuestos polifenólicos, se infiere que es posible la presencia de dichos compuestos no tánicos.

9.2.1.2. Investigación de Alcaloides (Tabla No. 39):

La presencia de turbidez al reaccionar la muestra analizada con el reactivo de Wagner, permite inferir la presencia de alcaloides, aminor cuaternarias u óxidos de aminor. También es probable que la reacción de precipitación observada sea una falso-positivo, como también lo es que la falta de reacción de precipitación con los reactivos de Mayer y Dragendorff sean del tipo falso-negativo (los controles de atropina y algunos de papaverina no dieron reacción positiva).

9.2.1.3. Investigación de flavonoides y antocianinas (Tabla No 40):

Sólo resultó positiva la prueba para polifenoles y dudosa la prueba para antocianinas. Las demás pruebas resultaron ser negativas para la presencia de flavonoides.

9.2.1.4. Investigación de saponinas (Tabla No. 41):

Resultado ser evidente la presencia de saponinas en el extracto etanólico analizado. Es importante integrar estos resultados con los obtenidos con las pruebas cromatográficas.

9.2.2. Cromatografía en capa fina:

9.2.2.1. Extracto Etanólico (Tabla No. 42):

Los compuestos con valores de Rf 0.74 y 0.46 resultaron ser positivos para alcaloides y/o aminor terciarias y/o cuaternarias u óxidos de amina, y el compuesto con Rf 0.37 también puede ser considerado dentro este grupo o como un compuesto con reacción falso-positiva. El compuesto con Rf 0.37 puede ser considerado como una reacción positiva para compuestos esteroidales. Los compuestos con Rf 0.05 y 0.15 podrían ser considerados como compuestos polifenólicos. El compuesto fluorescente a 365 nm y Rf 0.96 podría corresponder a un compuesto cumarínico o a un compuesto con al menos 2 dobles enlaces conjugados.

9.2.2.2. Extracto etanólico amoniacal: Se confirmaron los resultados obtenidos para los compuestos con Rf igual a 0.74, 0.46 y 0.37 (Ver inciso anterior).

9.2.2.3. Extracto etanólico hidrolizado con HCl (Figura No. 1):

De acuerdo a los resultados obtenidos, se presume que los compuestos identificados con las letras A-E posiblemente sean cumarinas o compuestos con al menos 2 dobles enlaces conjugados.

9.3. Integración de resultados Fitoquímicos-Farmacológicos:

Es posible que la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico sea probablemente debida a la presencia de saponinas de tipo esteroidal. Por otro lado, si se confirma la presencia de cumarinas análogas a los salicilatos, o si se establece la presencia de polifenoles o fenilpropanos parecidos al ibuprofeno, es posible que la actividad antiinflamatoria observada se produzca por un mecanismo similar a estos compuestos antiinflamatorios de origen sintético.

10. CONCLUSIONES:

- 10.1. El extracto Hexánico de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) posee actividad antiinflamatoria significativa sólo a la máxima dosis ensayada (200 mg/Kg de peso).
- 10.2. El extracto Etanólico de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) posee actividad antiinflamatoria significativa a dosis mayores de 140 mg/Kg de peso.
- 10.3. El extracto Acuoso de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) no tiene actividad antiinflamatoria significativa a ninguna de las dosis ensayadas.
- 10.4. El extracto Etanólico de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) es el que contiene en mayor proporción al principal principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria de dicha especie.
- 10.5. El extracto Etanólico de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) posiblemente está constituido por compuestos alcaloidales y/o aminas terciarias o cuaternarias, saponinas de tipo esteroidal, polifenoles y posiblemente cumarinas o compuestos con al menos dos dobles enlaces conjugados.
- 10.6. Existe una alta probabilidad que el compuesto responsable de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de flores de *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) sea de tipo esteroidal.
- 10.7. De confirmarse la presencia de cumarinas análogas a los salicilatos o de establecerse la presencia de polifenoles o fenilpropanos parecidos al ibuprofeno, es posible también que la actividad antiinflamatoria observada pueda producirse mediante un mecanismo análogo al de estos dos fármacos de origen sintético.
- 10.8. Ninguno de los extractos evaluados es tóxico a dosis menores de 320 mg/Kg de peso ($DL_{50} > 320$ mg/Kg de peso).

11. RECOMENDACIONES:

- 11.1. Realizar el fraccionamiento cromatográfico del extracto etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo) hasta aislar el principal principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria.
- 11.2. Complementar el presente estudio con la evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de flores de *Gnaphallium stramineum* (Sanalotodo).

12. REFERENCIAS:

- 12.1. Albornoz A. PRODUCTOS NATURALES; Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1980. 616 p.
- 12.2. Escobedo A. LAS DROGAS; De los orígenes a la prohibición. Madrid: Alianza Editorial, 1994. 96 p.
- 12.3. Morton JF. ATLAS OF MEDICINAL PLANTS OF MIDDLE AMERICA; Bahamas to Yucatan. USA: Charles C. Thomas. Vols. 2, vol 1. 1981. XXVIII+1420 p.
- 12.4. Lozoya X, Lozoya M. FLORA MEDICINAL DE MEXICO; Primera parte: Plantas Indígenas. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 1982. 318 p.
- 12.5. Weninger B, Robineau L. ELEMENTOS PARA UNA FARMACOPEA CARIBEÑA. ENDA-CARIBE. Habana: Ministerio de Salud Pública, 1981. 318 p.
- 12.6. Dieseldorff IP. LAS PLANTAS MEDICINALES DEL DEPARTAMENTO DE ALTA VERAPAZ. Guatemala: Tipografía Nacional, 1977. 27 p.
- 12.7. Aguilar JI. PLANTAS MEDICINALES; Relación de Unos Aspectos de la Flora Util de Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura, 1966. 375 p.
- 12.8. Orellana SL. INDIAN MEDICINE IN HIGHLAND GUATEMALA. Albuquerque: University of New Mexico, 1987. 308 p.
- 12.9. Ronquillo FA, Melgar MF, Carrillo JE. ESPECIES VEGETALES DE USO ACTUAL Y POTENCIAL EN ALIMENTACION Y MEDICINA DE LAS ZONAS SEMIARIDAS DEL NORORIENTE DE GUATEMALA. Cuaderno de Investigación, Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, 1988. 192 p.
- 12.10. Cáceres A, Saper D. ESTUDIOS SOBRE MEDICINA POPULAR EN GUATEMALA. Guatemala: Medicina Tradicional, 1977. 68 p.
- 12.11. Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada (CEMAT). INFORME DEL PRIMER TALLER SOBRE BOTANICA MEDICINAL GUATEMAL-TECA. Guatemala: CEMAT-IMEPLAM, 1980. 51 p.

- 12.12. Cáceres A, Girón LM, Juárez ME. ESTUDIOS COLABORATIVOS Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA SOBRE PLANTAS MEDICINALES ENTRE USAC Y CEMAT. Guatemala: Perspectiva, 1983. 165 p.
- 12.13. Cáceres A, Girón LM. SISTEMA PARA LA REVALIDACION, INVESTIGACION Y COMERCIALIZACION DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN GUATEMALA. Guatemala: Centro de Estudios Folklóricos, 1984. 316 p.
- 12.14. Girón LM. ETHNOBOTANICAL SURVEY OF THE MEDICINAL FLORA USED BY CARIBS OF GUATEMALA. *J. Ethnopharmacol.* 1991; 34: 173-187.
- 12.15. Cáceres A, et al. DIURETIC ACTIVITY OF PLANTS USED FOR THE TREATMENT OF URINARY AILMENTS IN GUATEMALA. *J. Ethnopharmacol.* 1987; 19: 233-245.
- 12.16. Cáceres A, et al SCREENING OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANTS POPULARY USED IN GUATEMALA FOR THE TREATMENT OF DEMATOMUCOS DISEASES. *J. Ethnopharmacol.* 1987; 20: 223-237.
- 12.17. Girón L, et al. ANTICANDIDAL ACTIVITY OF PLANTS USED FOR TREATMENT OF VAGINITIS IN GUATEMALA AND CLINICAL TRIAL OF SOLANUM NIGRESCENS PREPARATIONS. *J. Ethnopharmacol.* 1988; 22: 307-313.
- 12.18. Cáceres A, Samayoa B. TAMIZAJE DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PLANTAS UTILIZADAS EN GUATEMALA PARA EL TRATAMIENTO DE AFECCIONES GASTROINTESTINALES. Cuaderno de Investigación No. 6. Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, 19812. 138 p.
- 12.19. Cáceres A, et al. PLANTS USED IN GUATEMALA FOR THE TREATMENT OF RESPIRATORY DISEASES: SCREENING OF 68 PLANTS AGAINST GRAM POSITIVE BACTERIA. *J. Ethnopharmacol.* 1991; 31: 193-208.
- 12.20. Cáceres A. PLANTS USED IN GUATEMALA FOR THE TREATMENT OF GASTROINTESTINAL DISORDERS. *J. Ethnopharmacol.* 1990; 30: 55-73.

- 12.21. Cáceres A, et al. ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE PLANTAS DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA. Cuaderno de Investigación No. 7, Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, 1992. 89 p.
- 12.22. Sanchez MJ. ESTUDIO DE LA ACCION ANALGESICA DE LAS INFUSIONES DE *Catopheria chiapensis* (LINIMENTO), SEMILLA DE *Moringa oleifera* (PARAISO BLANCO) Y HOJA DE *Lippia alba* (SALVIA SIJA) UTILIZADAS POPULARMENTE EN GUATEMALA. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1994. 74 p.
- 12.23. Fernández MR, Saravia A. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IV VIVO* DE *Plantago major* (LLANTEN) DISTRIBUIDO POR LOS CENTROS NATURISTAS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA. Revista Científica (Fac. de CC. QQ. y Farmacia/Universidad de San Carlos) 1993; 12.1: 35.
- 12.24. Winter CA, et al. CARRAGENIN-INDUCED EDEMA IN HIND PAW OF THE RAT AS AN ASSAY FOR ANTI-INFLAMATORY DRUGS. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. III: 544-547.
- 12.25. Barberan FT, Mañez S, Villar A. IDENTIFICATION OF ANTIINFLAMMATORY AGENTS FROM *Sideretis* SPECIES GROWING IN SPAIN. J. Nat. Prod. 1987; 50:313-314.
- 12.26. Fenical W. MARINE SOFT CORAL OF THE GENUS *Pseudoterogorgia*: A RESOURCE FOR NOVEL ANTI-INFLAMMATORY DITERPENOIDS. J. Nat. Prod. 1987; 50:1001-1008.
- 12.27. Otsuka H, et al. ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BENZOXAZINOIDS FROM ROOTS OF *Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen* J. Nat. Prod. 1988; 51:74-712.
- 12.28. Yesilada E, et al. ISOLATION OF AN ANTI-INFLAMMATORY PRINCIPLE FROM THE FRUIT JUICE OF *Ecballium elaterium*. J. Nat. Prod. 1988; 51:504-508.

- 12.29. Lorente I, et al. BIOACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Bupleurum fruticosum*. J. Nat. Prod. 1989; 52:267-272.
- 12.30. Alcaraz MJ, et al. ANTI-INFLAMMATORY COMPOUNDS FROM *Sideritis javalambrensis* N-HEXANE EXTRACT. J. Nat. Prod. 1989; 52:1088-1091.
- 12.31. Fourie TG, Snyckers FO. A PENTACYCLIC TRITERPENE WITH ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC ACTIVITY FROM THE ROOTS OF *Commiphora merkeri*. J. Nat. Prod. 1989; 1129-1131.
- 12.32. Aquino R, et al. PLANT METABOLITES, NEW COMPOUNDS AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *Uncaria tomentosa*. J. Nat. Prod. 1991; 54:453-459.
- 12.33. Mata R, et al. CHEMICAL STUDIES ON MEXICAN PLANTS USED IN TRADITIONAL MEDICINE, XVIII. NEW SECONDARY METABOLITES FROM *Dodonaea viscosa*. J. Nat. Prod. 1991; 54:913-918.
- 12.34. Sharma DK, Hall H. HYPOLIPIDEMIC, ANTI-INFLAMMATORY, AND ANTINEOPLASTIC ACTIVITY AND CYTOTOXICITY OF FLAVONOLINANS ISOLATED FROM *Hydnocarpus wightiana* SEEDS. J. Nat. Prod. 1991; 54:1298-1302.
- 12.35. De Sousa JR, et al. DIBENZYL TRISULPHIDE AND TRANS-N-METHYL-4-METHOXYPROLINE FROM *Petiveria allizcea*. Phytochem. 1990; 29:3653-3655.
- 12.36. Elisabetsky E, Castilhos ZC. PLANTS USED AS ANALGESICS BY AMAZONIAN CABOCLOS AS BASIS FOR SELECTING PLANTS FOR INVESTIGATION. Int. J. Crude Drug Res., 1990; 28:309-320.
- 12.37. Girón LM, et al. ETHNOBOTANICAL SURVEY OF THE MEDICINAL FLORA USED BY THE CARIBS OF GUATEMALA. J. Ethnopharmacol, 1988; 34:173-187.

12.38. Cáceres A, et al. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS MEDICINALES DE USO POPULAR EN GUATEMALA, FASE I. Cuaderno de Investigación No. 5, Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, 1992, 61 p.

12.39. Zabala L, Saravia A. ACCION ANTIINFLAMATORIA DE LAS INFUSIONES DE RAIZ, TALLO, HOJA, FLOR Y SEMILLA DE *Moringa oleifera* (PARAISO BLANCO). Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1989. 77 p.

12.40. Morales Y, Saravia A. CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO Y FARMACOLOGICO DE *Moringa oleifera* (PARAISO BLANCO) COMO ANTIINFLAMATORIO. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 54 p.

12.41. Cifuentes G, Saravia A. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DE *Trigonella foenumgraccum* (FENOGRECO), DISTRIBUIDO POR LOS CENTROS NATURISTAS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1990. 46 p.

12.42. Saravia A, et al. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS MEDICINALES DE USO POPULAR EN GUATEMALA. Libro de Resúmenes, XX Congreso Centroamericano y del Caribe de Ciencias Farmacéuticas. 1992; Sección P: P-9.

12.43. Echeverría Y, Pérez R. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DE *Tridax procumbens*, *Brassica oleraceae* Y *Equisetum giganteum*. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencia Químicas y Farmacia) 1992, 50 p.

12.44. Saravia A, et al. INFORME FINAL DEL PROYECTO DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA, FASE II. Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, Doc. Tec. 1993. 23 P.

12.45. Saravia A, et al. ANTEPROYECTO DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA, FASE IV. Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Universidad de San Carlos, Doc. Tec. 1994, 30 p.

12.46. Saravia A, Madariaga I, Hernández M. ANTEPROYECTO DE ACTIVIDAD ANALGESICA DE PLANTAS DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Fac. de CC. QQ. y Farmacia. Guatemala: Universidad de San Carlos, Doc. Tec. 1994. 20 p.

12.47. Deutschmann F, et al. PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE: 3-Drogenanalyse I: Morphologie und Anatomie. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1992. 450 p.

12.48. Stahl E, Schild W. PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE: 4-Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1982. 462 p.

12.412. Stahl E, Schild W. ISOLIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON NATUROSTOFFEN. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1986. 180 p.

12.50. Trease GE, Evans WC. TRATADO DE FARMACOGNOSIA. 12 ed. Cabo J, trad. México: Interamericana, 1988. 846 p.

12.51. Ciulei I. PRACTICAL MANUALS ON THE INDUSTRIAL UTILIZATION OF MEDICINAL PLANTS. Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucarest: Fac. of Pharmacy, 1982. 72 p.

12.52. Gennaro A, et al (compiladores). Remington/FARMACIA. 17a. ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1987. 2723 p.

12.53. Steel RG, Torrie JH. BIOESTADISTICA. Principios y procedimientos. 2a. ed. Martínez R, trad. México: McGraw-Hill, 1980. 622 p.

12.54. Matute J. ¿CUANTAS REPETICIONES TENGO QUE HACER EN MI ENSAYO?. Revista Nutrición al Día, Boletín Semestral de la Escuela de Nutrición Fac. CC. QQ. y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 1990;IV-2:29-50.

- 12.55. Cronquist A. INTRODUCCION A LA BOTANICA. 2a. ed. Marino A, trad. México: Compañía Editora Continental S. A. (CECSA), 1977 (novena impresión, 1987). 848 p.
- 12.56. Standley PC, Williams LO. FLORA OF GUATEMALA. Chicago: Field Museum of Natural History. Vol. 24, Part XII. Nos. 1 & 2. 1976 (p. 177).
- 12.57. CEMAT. FICHAS POPULARES DE PLANTAS MEDICINALES. Guatemala: CEMAT-FARMAYA, 1992.
- 12.58. Rzedowski J. VEGETACION DE MEXICO. México: LIMUSA, 1978 (3ra. reimpresión, 1986. 432p.
- 12.59. Robbins SI, Contran RS. PATOLOGIA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL. 3a. ed. México: Interamericana, 1987. 1434 p.
- 12.60. Stites DP, Terr AI. INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA. 7a. ed. Ramírez JA, trad. México: El Manual Moderno, 1993. 1055 p.
- 12.61. Wilson W, et al. PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA. 12a. ed. México: Interamericana. Vols. 2, vol 2, 1991. 2762 p.
- 12.62. Ministerio de Sanidad y Consumo. GUIA FARMACOLOGICA PARA LA ASISTENCIA PRIMARIA. Madrid: Mateo Cromo, 1987. 360 p.
- 12.63. Ministerio de Sanidad y Consumo. INFORMACION DE MEDICAMENTOS; USP DI. 8a. ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 1989. 2438 p.
- 12.64. Litter M. FARMACOLOGIA. 7a. ed. Buenos Aires: El Atenco, 1986. 1953.
- 12.65. Katzung BG. FARMACOLOGIA BASICA Y CLINICA. 4a. ed. México: El Manual Moderno, 1991. 691 p.
- 12.66. Medinilla B. MANUAL DE LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA. Depto. de Analisis Aplicado, Fac. de CC. QQ. y Farmacia. Guatemala: Universidad de San Carlos, Doc. Tec. 1987. 44 p.

12.67. Sandberg F, Ratsimbason M, Adriantsoa M. MANUAL PRACTICO DE INVESTIGACION FARMACOLOGICA DE PLANTAS MEDICINALES. Antananarivo, Madagascar: ONUDI, Doc. Tec. 1990. 87 p.

12.68. Shriner R, Fuson R, Curtin D. IDENTIFICACION SISTEMATICA DE COMPUESTOS ORGANICOS. Domínguez X, trad. México: LIMUSA, 1966 (7a. reimpresión, 1988). 479 p.

12.69. Rahman A, Le Quesne PW. NEW TRENDS IN NATURAL PRODUCT CHEMISTRY. Karachi, Pakistan: UNESCO-SCAMAP, 1986. 671 p.

12.70. Consejo de Europa. FARMACOPEA EUROPEA. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 1988. I - IX.1.1-2.

12.71. Claus E, Tyler V, Brady L. PHARMACOGNOSY. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1970. 518 p.

12.72. Domínguez X. CROMATOGRAFIA EN PAPEL Y CAPA DELGADA. Washington: Organización de Estados Americanos, 1982. 80 p.

12.73. Gross EG, et al. INTRODUCCION AL ESTUDIO DE LOS PRODUCTOS NATURALES. Washington: Organización de Estados Americanos, 1985. 146 p.

12.74. Santacruz LH. MANUAL: SELECCION FITOQUIMICA. Depto. Química Orgánica, Fac. CC. QQ. y Farmacia. Guatemala: Universidad de San Carlos, Doc. Tec. 91 p.

12.75. Pecsok R, Shields LD. METODOS MODERNOS DE ANALISIS QUIMICO. Pérezamador MC, trad. México: LIMUSA, 1973 (5a. reimpresión, 1990). 487 p.

12.76. Romo A. PRODUCTOS NATURALES DE LA FLORA MEXICANA. México: LIMUSA, 1985. 220 P.

13. ANEXOS

INDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 13.1. Clasificación Botánica del <i>Gnaphalium stramicum</i> (Sanalotodo)	85
ANEXO 13.2. Descripción Botánica del <i>Gnaphalium stramicum</i> (Sanalotodo)	86
ANEXO 13.3. Dibujo de la planta <i>Gnaphalium stramicum</i> (Sanalotodo)	87
ANEXO 13.4 Farmacología experimental de antiinflamatorios	88
ANEXO 13.5 Métodos extractivos (Contexto Fitoquímico-Farmacognóstico)	89

ANEXO 13.1.
Clasificación Botánica del
Gnaphalium stramicum
(Sanalotodo)

- 13.1.1. Reino: **Plantae.**
13.1.2. Subreino II: **Embryobionta.**
13.1.3. División XVII: **Magnoliophyta.**
13.1.4. Clase I: **Magnoliopsida.**
13.1.5. Subclase VI: **Asteridae.**
13.1.6. Orden 11: **Asterales.**
13.1.7. Familia: **Asteraceae.**
13.1.8. Género: ***Gnaphalium***
13.1.9. Especie: ***Gnaphalium stramicum* HBK 1820.**
13.1.10: Sinonimia: ***Gnaphalium chilense* Spreng 1826.**
***Gnaphalium sprengellii* Hook & Arn 1833.**
***Gnaphalium berlandieri* DC 1838.**
Gnaphalium chilense* var. *confertifolium
Green 1897.
- 13.1.11. Nombres comunes: **Sanalotodo, flor de seda (55-58).**

ANEXO 13.2.
Descripción Botánica del
Gnaphalium stramicum
(Sanalotodo)

El *Gnaphalium stramicum* (Sanalotodo) es una especie propia de los bosques de pinos y encinos, que crece en altitudes de aproximadamente 1800-2000 m snm. Se desarrolla principalmente en tierra suelta y arenosa, principalmente en Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Zacapa, y otras regiones del país. También se le ha encontrado en el oeste de los Estados Unidos y en México (56-58).

Por lo general es una hierba aromática con raíces fuertes, los tallos son erectos o raramente decumbentes, simples o ramificados, mas o menos veloso-lanados por todas partes; las hojas basales y las de la parte más baja del tallo son espatuladas a oblongas, usualmente obtusas; las hojas del medio y de la parte superior del tallo son principalmente lineales, de 2-5 cm de largo, de 0.2-0.4 cm de ancho, por lo general obtusas, poco dilatadas y cerradas en la base, poco decurrentes sobre los tallos, densamente lanadas; la planta presenta inflorescencias compactas, con cabezuelas atestadas dentro de pequeños glomerulos; involucros 4-6 mm de alto; filarios brillosos, blancos al principio pero que posteriormente adquieren un color amarillento, ovados a obovados y obtusos o agudos los mas externos, y lineales y obtusos los mas internos; hay 175 flores o mas por cabezuela, con 15-20 o más flores hermafroditas; vilano de cerdas a partir de la separación de los aquenios (56).

El *Gnaphalium stramicum* (Sanalotodo) es una especie muy variable, que puede ser encontrada en muchos habitats en Norte y Centroamérica. Se ha reportado la colecta de muestras con hojas con aproximadamente 8 mm de ancho (56-58).

ANEXO 13.3.

Dibujo de la planta *Gnaphalium stramineum* (Sanalotodo) (57).



ANEXO 13.4

Farmacología experimental de antiinflamatorios.

La metodología para demostrar la actividad antiinflamatoria *in vivo* consiste en la producción de un edema artificial mediante la administración subcutánea de carragenina o caolín a nivel de la aponeurosis plantar de la pata de la rata provocando una reacción inflamatoria, luego se mide esta inflamación por pletismometría de acuerdo con el método según Winter y colaboradores modificado por Sughisita (24).

Los cambios en el volumen de la pata se comparan contra fármacos de referencia y por análisis estadístico se establece la actividad antiinflamatoria para cada infusión, extracto o fracción fitoquímica que es sometido(a) a la prueba. El edema inducido es mediado por liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradiquinina, prostaglandinas) además, diversos factores del complemento están implicados en la amplificación de la respuesta (24).

Una hora después de la administración, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de 1.5 horas a 2.5 horas después de la inyección de carragenina o caolín, intervienen las quininas como mediadores. La última fase esta mediada por las prostaglandinas PGE₁, PGE₂ y PGF_{2α}; la respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de caolín o carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas tiene lugar durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, especialmente leucocitos polimorfonucleados, comienza a las dos horas de haber inyectado el agente. Se ha demostrado que el edema que se produce con carragenina o caolín está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este test guarda una buena correlación con la actividad antiinflamatoria clínica (24, 59-61).

Las plantas detectadas en las encuestas etnobotánicas y revisiones de la literatura a las que se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, pueden contener algún principio que inhibe uno o varios de los factores que inducen reacción inflamatoria, sean estos de tipo esteroidal o no esteroidal. La metodología que ha sido estandarizada en el departamento de Farmacología y Fisiología de la Escuela de Química Farmacéutica de la FCCQQ y Farmacia de la USAC es utilizada para tamizar la actividad de infusiones, extractos y fracciones fitoquímicas obtenidas a partir de plantas medicinales (24, 39-45, 62-65).

ANEXO 13.5

Métodos extractivos

(Contexto Fitoquímico-Farmacognóstico).

El marco fitoquímico de referencia para la ejecución del presente trabajo de tesis esta constituido por los extractos crudos vegetales y los fenómenos químicofarmacéuticos que rigen su preparación (51, 66, 67).

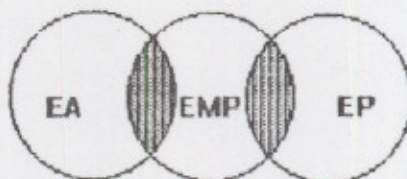
El término *Extracción* desde el punto de vista farmacéutico se refiere a la separación de porciones medicinalmente activas provenientes de tejidos vegetales o animales, de todos aquellos componentes inactivos o inertes, mediante el uso de solventes selectivos. Los productos así obtenidos son líquidos, semisólidos y sólidos relativamente impuros, utilizados únicamente por vía oral o externa. Incluyen preparados galénicos conocidos como elixires, extractos pilulares, extractos fluidos, extractos blandos, extractos polvoreos o pulverizados, jarabes, tinturas, decocciones e infusiones. El esquema extractivo que se utilizará en el presente trabajo es el desarrollado por Ciulei y en terminos generales se puede definir como una liberación extractiva fraccionada mediante un gradiente de polaridad ascendente. Mediante el uso de este diseño se pretenden aprovechar la selectividad y especificidad de los solventes extractores utilizados (51, 66, 67).

Dicho esquema extractivo propuesto por Ciulei contempla la preparación de tres extractos crudos que permitan una separación selectiva de los principales grupos funcionales de interés fitoquímico y farmacológico presentes en la planta sujeto al estudio. Según el autor del esquema mencionado, la selectividad de los extractos obtenidos sería la siguiente:

- 13.5.1. Extracto apolar (Eter de Petróleo y/o mezcla de hexanos): Aceites Volátiles, esteroides y triterpenos, carotenoides, acidos grasos, alcaloides, agliconas de flavonoides, emodoles y cumarinas (51).
- 13.5.2. Extracto Medianamente polar (Metanol o Etanol al 80 %): Taninos (gálicos y catecolicos) compuestos reductores, alcaloides, glicósidos diversos (principalmente antracósidos, esteroidales, terpenoidales, flavonoides y antocianidinicos) y cumarinas (51).
- 13.5.3. Extracto polar (agua desmineralizada o destilada): poliuronidos, com-

puestos reductores, osas, poliosas, saponinas, taninos (galicos y catecolicos) y sales alcaloidales (51).

13.5.4. Gráficamente, la selectividad del esquema extractivo puede representarse de la siguiente forma:



Donde:

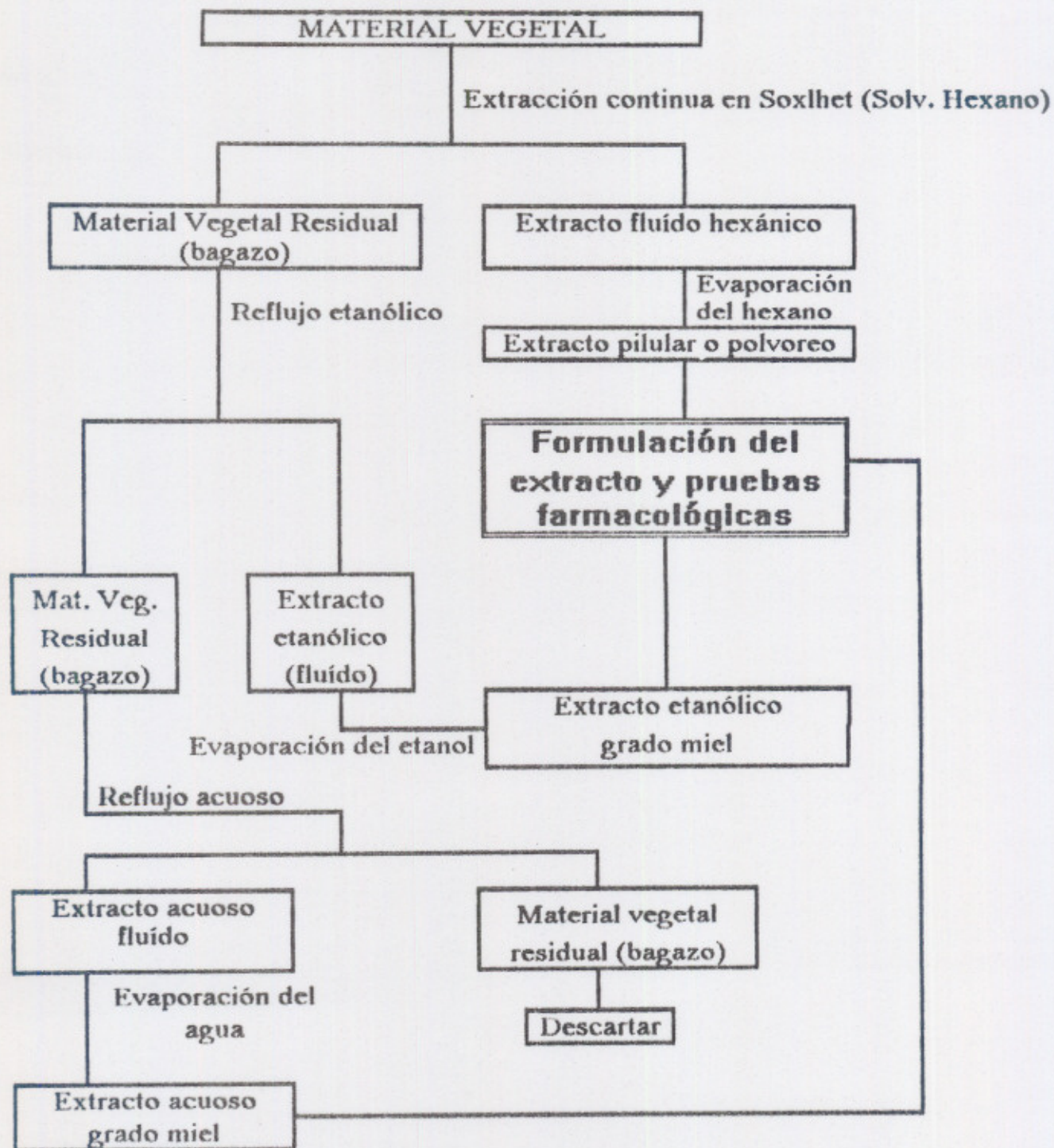
EA= Extracto apolar.

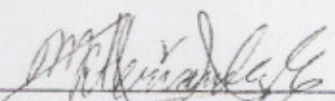
EMP= Extracto medianamente polar.

EP= Extracto polar

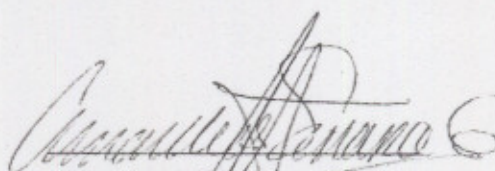
13.5.5. Caracterización Fitoquímica: De acuerdo al esquema desarrollado por Ciulei, una vez obtenidos los extractos crudos de la planta estudiada se debe proceder a la caracterización de los mismos (es decir, determinar sus perfiles fitoquímicos o "huellas digitales") para lo cual se deben utilizar las técnicas convencionales de análisis de Química Orgánica y de selección Fitoquímica (tamizaje fitoquímico semimicro) en combinación con técnicas de cromatografía en capa fina (1, 48-51, 66, 68-76).

13.5.6. El diagrama del esquema extractivo es el siguiente: (incluye formulación de los extractos y la evaluación farmacológica de los mismos).

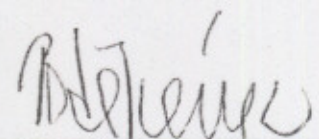




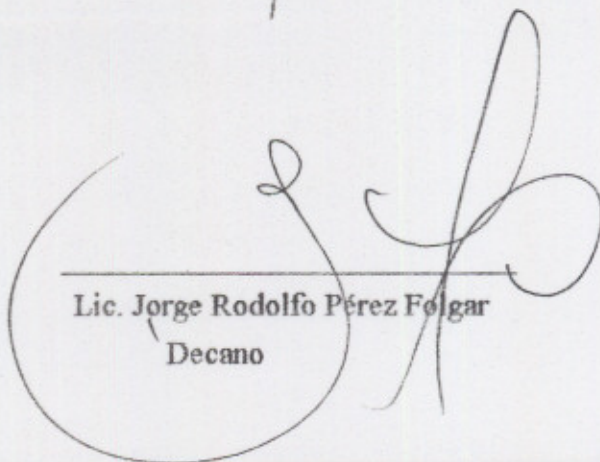
Mynor Rolando Hernández Espina
Autor



Dra. Amarillis Saravia G.
Asesora



Licda. Beatriz Batres de Jimenez
Directora de la Escuela de Química Farmacéutica



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano