

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

Estudio Farmacológico de los extractos hexánico, Clorofórmico,
cloroformo-metanol (9:1), metanólico y acuoso de la especie
Tridax procumbens (hierba del toro), como antiinflamatorio
(Estudio Farmacológico fase II).



VIRNA GRACIELA RIVAS ROMERO

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, septiembre del 2000.

DL
06
+(2088)

JUNTA DIRECTIVA

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

DECANA:	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO:	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I:	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
VOCAL II:	Dr. Rubén Daniel Velásquez Miranda
VOCAL III:	Dr. Federico Adolfo Richter
VOCAL IV:	Br. César Alfredo Flores López
VOCAL V:	Br. Manuel Anibal Leal Gómez

DEDICATORIA

A Dios

Agradeciéndole la sabiduría que me brindó.

A la Virgen María

Por iluminarme y guiarme en los momentos difíciles.

A mi Madre

Por su amor y ayuda que me brindó siempre.

A mi Padre

Por su cariño.

A mi Esposo

Por su amor, comprensión, sostén y apoyo incondicional en todo sentido, gracias.

A mis familiares

En especial a mi Tía Rosita por su amor y cuidados en mi vida.

A mis abuelitos

Brígido Romero Q.D.E.
Enriqueta de Romero
Por sus sabios consejos

Encarnación Rivas
Epifanea Fajardo
Con cariño.

A mis suegros

Carlos Cortéz
Olga de Cortéz
Por su apoyo incondicional

A mis cuñados

Roberto Cortez
Daniel Cortéz
Por todo el apoyo que me brindaron.

A mis profesores

Licdas. Hada Alvarado, Lucrecia Peralta y Beatriz Medinilla
Por sus consejos motivación y afecto.

A mis amigas

Especialmente a Evelyn Ortega y Dina Muy por su sincera amistad.

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Marta Inés Reyes Mayén por su asesoría en el presente trabajo de investigación.

A la Dra. Ingebor Berger y Licda. Ana María Rodas por su amistad y colaboración en el presente trabajo de investigación.

A la Licda. Raquel Pérez Obregon por su colaboración en el presente trabajo de investigación.

Al Centro Guatemalteco de Información de Medicamentos -CEGIMED-, especialmente a las Licdas. Anne de Godoy y Lorena Cerna por su amistad y apoyo incondicional en la elaboración del presente trabajo de investigación.

INDICE

	Páginas
1. Resumen	2
2. Introducción	3
3. Antecedentes	5
4. Justificación	8
5. Objetivos	9
6. Hipótesis	10
7. Materiales y Métodos	11
8. Resultados	26
9. Discusión de Resultados	49
10. Conclusiones	54
11. Recomendaciones	55
12. Referencias	56
13. Anexos	60

1.- RESUMEN

El siguiente trabajo fue realizado con el objeto de evaluar la actividad antiinflamatoria de la especie Tridax procumbens (hierba del toro) (anexo 1) con diferentes tipos de extractos (hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanol 9:1, metanólico y acuoso) como estudio Farmacológico fase II. Los distintos extractos se prepararon según la metodología de Ciulei (1).

Se estableció la actividad antiinflamatoria en ratones albinos por medio de la inducción de edema en la región suplantar de la pata derecha del ratón con caolín, propuesta por Winter y colaboradores y modificado por Sugishita (2,3).

Seguidamente se administraron los diferentes extractos (hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanol 9:1, metanólico y acuoso) a dosis de (100, 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso) evaluándose por medio de pletismografía el extracto que presentó mayor efecto antiinflamatorio.

Posteriormente se realizó un tamizaje fitoquímico por medio de pruebas convencionales propuestas por Ciulei (1), Medinilla B., y otros autores (4) con el extracto que presentó mayor efecto antiinflamatorio, conjuntamente se realizó con todos los extractos la DL_{50} para garantizar que las dosis investigadas no sean tóxicas.

Los resultados obtenidos muestran que el extracto cloroformo-metanol (9:1) fue el que presentó mayor actividad antiinflamatoria a dosis de 100,115,132,152,175 y 201 mg/kg de peso.

Con los datos obtenidos se elaboró una curva de porcentaje de inflamación vrs. tiempo, para hacer el análisis estadístico de la actividad antiinflamatoria se utilizó integración numérica del 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 la diferencia entre los tratamientos se realizó la prueba de DUNNET para evaluar el efecto antiinflamatorio de los tratamientos frente al control negativo, con un nivel de significancia ($p < 0.05$).

La toxicidad aguda se evaluó a concentraciones de 250, 350 y 450 mg/kg de peso del extracto cloroformo-metanol(9:1) , que fue el que presentó mejor respuesta antiinflamatoria, no mostrando a esas concentraciones ninguna toxicidad.

En cuanto a los resultados que presentó el tamizaje fitoquímico se presume la presencia de los metabolitos secundarios de tipo flavonoles, flavonas, antranas, antranoles y amanogentinas.

2.- INTRODUCCION

Debido a la escasez de recursos económicos que presenta la mayor parte de la población guatemalteca y la dificultad que tienen en adquirir medicamentos, se hace necesario la utilización de recursos vegetales que el país posee, ya que gracias a la ubicación geográfica que en el mismo se observa proporciona una densa y variada flora que puede ser usada como medicina natural.

En el caso de la especie Tridax procumbens (hierba del toro) se ha determinado la actividad antiinflamatoria de las infusiones de sus hojas, corteza, flores, a dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso (5).

Por lo tanto se hace necesario continuar con dichos estudios utilizando extracciones con solventes que presentan diferente polaridad, como hexano, cloroformo, cloroformo-metanol (9:1), metanol y agua, para determinar experimentalmente, cual de ellos posee mayor efecto antiinflamatorio.

El presente trabajo tendrá también como objetivo el recaudar más información acerca de dicha especie, esperando sea transmitida por los futuros Químicos Farmacéuticos a la población, evaluando, con cada persona tratada con hiera del toro, los resultados observados.

Para dichas extracciones se procede a recolectar, moler y rotaevaporar la planta, con los distintos solventes: posteriormente se realiza un ensayo farmacológico a distintas dosis (100, 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso) con varios grupos de ratones albinos, administrándoles por vía oral dicha dosis.

Luego de haber efectuado los tratamientos farmacológicos se evaluó el edema producido a los ratones durante 5 horas, por pletismografía.

Seguidamente se agrupan los datos para realizar un análisis estadístico (pruebas de ANDEVA y DUNNETT) nivel de significancia ($p < 0.05$), estimando las diferencias entre los extractos y determinando el que posee mayor efecto antiinflamatorio; conjuntamente se determinó la DL_{50} y se realizó un screening fitoquímico del extracto que presento mayor actividad antiinflamatoria. (5).

3.- ANTECEDENTES

3.1 ESTUDIOS REALIZADOS:

Vasquez A T. en 1997 realizó un estudio en que demostró que las infusiones de Tridax procumbens a dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso poseen actividad analgésica. (6).

Barahona S.J. en 1995 realizó un estudio demostrando que la especie Tridax procumbens no posee actividad tripanostática. (7).

Alvarado M M. en 1992 demostró que las infusiones de tallos y hojas de la especie Tridax procumbens no posee actividad antiespasmódica. (8).

Echeverría A A. en 1992 realizó un estudio en el que demostró que las infusiones de hojas, tallos y raíces de Tridax procumbens a dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso poseen actividad antiinflamatoria in vivo. (5).

En la India se encontró que el jugo de la hierba del toro es efectivo, como cicatrizante, en el tratamiento de granuloma producido en ratas. (5).

Se han realizado diversos estudios sobre la actividad antibacteriana de las hojas de hierba del toro in vitro, siendo negativo el resultado sobre los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, *Enteropatogénica*, *Salmonella enteriditis*, *Salmonella typhi*, *Shigela disenteriae*, *Shigela flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus penumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Candida albicans*. (9).

Neeta, Ram y Patil en 1985, evaluaron los extractos de algunas plantas, para determinar su eficacia como protectores de las legumbres contra los escarabajos, una de ellas fue Tridax procumbens, a la cual extrajeron sus componentes con tres diferentes solventes (éter de petróleo, benceno y alcohol) y los compararon con repelentes e insecticidas que poseen propiedades contra el escarabajo de las legumbres. De los tres extractos, el material extraído con éter de petróleo, resultó ser muy efectivo, ya que disminuyó la población y detuvo la fecundidad del escarabajo. (10).

Prakash, Tillo y Kulkarni en 1982, presentaron un estudio sobre la influencia de Tridax procumbens L. En la cicatrización de heridas, para ello se utilizó el jugo de ésta, a una concentración de 1 ml/kg por día I.P., y fue evaluado en tres diferentes animales de experimentación.

En conejos adultos, redujo el tiempo de epitelización, la contracción de la herida fue significativamente y permaneció totalmente lisa por 31 días.

En cobayos la herida recubierta con el jugo de la planta, presentó consistencia tensa, al compararla con los animales control.

Los machos de ratas albinas, tratados con Tridax procumbens presentaron pequeños granulomas comparados con los controles. Los diferentes resultados obtenidos curativos y no curativos, del jugo de la planta, evidencia la potencialidad terapéutica en el manejo de cicatrices hipertróficas y queloides.

(11).

3.2 TOXICIDAD:

La infusión de hojas y tallos de Tridax procumbens no resultó tóxica al ser evaluada a dosis de 750 mg/kg y 1-5 g/kg de peso en ratones albinos. (5).

4.- JUSTIFICACION

Debido a que un porcentaje considerable de la población guatemalteca, tiende a utilizar la medicina tradicional, basada en plantas; se hace necesario respaldar científicamente la actividad farmacológica antiinflamatoria de la especie Tridax procumbens (hierba del toro) y comprobar el tipo de extracto (hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanol 9:1, metanólico y acuso) que genere el mayor porcentaje de metabolitos secundarios responsables de dicha actividad.

5.- OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS GENERALES:

- Incrementar el conocimiento científico (fitoquímico) de la especie Tridax procumbens, para su utilización como antiinflamatorio.
- Continuar con el análisis científico de la especie Tridax procumbens fase II.

5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar qué extracto, de las hojas de la especie Tridax procumbens, posee mayor actividad antiinflamatoria, en ratones albinos.
- Determinar la dosis letal media (DL 50) de el o los extractos crudos de las hojas de la especie Tridax procumbens responsable de la actividad antiinflamatoria.

6.- HIPOTESIS

Uno de los cinco extractos (hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanol (9:1), metanólico y acuoso) obtenidos de las hojas de la especie Tridax procumbens, posee mayor actividad antiinflamatoria

7.- MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Extractos obtenidos de las hojas de la especie Tridax procumbens.

7.2 MEDIOS:

7.2.1 Recursos Humanos:

- ◆ Autor del trabajo: Br. Virna G. Rivas Romero
- ◆ Asesora: Licda. Marta Inés Reyes Mayén.

7.2.2 Recursos Materiales:

- ◆ Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- ◆ Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- ◆ Material y equipo de laboratorio.
- ◆ Pletismómetro digital Ugo Basile, modelo No. 56288.
- ◆ Ratones albinos machos (sujetos de experimentación) 25-30 g de peso.
- ◆ Reactivos químicos.
- ◆ Fármaco antiinflamatorio (Fenilbutazona). (ver anexo 2).
- ◆ Solventes para las extracciones (hexano, cloroformo, metanol y agua).
- ◆ Solución de Pletismómetro (ver anexo 3).
- ◆ Jeringas de 1 ml.

7.3 PROCEDIMIENTO:

7.3.1 Revisión bibliográfica.

7.3.2 Recolección de las hojas de Tridax procumbens (hierba del toro)

7.3.3 Secado de la planta (hojas) por secado indirecto al sol.

7.3.4 **Molienda de la planta** : utilizando tijeras para cortar el material vegetal, las hojas secas de Tridax procumbens se redujeron de tamaño, luego se pasaron por un molino de aspas para disminuir el tamaño de la partícula .

7.3.5 **Obtención de los extractos:** (4) (ver anexo 4).

♦ **Obtención del extracto hexánico:** Se percoló 187g. del material vegetal (hojas de Tridax procumbens) seco y molido en un percolador de aproximadamente un galón de capacidad. Posteriormente se adicionó aproximadamente 1000 ml ó más de hexano, se tapó, después de 48 horas el filtrado obtenido se evaporó en un rotaevaporador para evitar temperaturas mayores a 60°C hasta obtener un residuo seco. Se repitió el procedimiento de maceración, anterior con el mismo material vegetal, cuantas veces sea necesario a manera de extraer en frío los compuestos químicos que posee la especie Tridax procumbens . Se evaporó cada extracto filtrado hasta que la cantidad de residuo seco obtenido, no tuviera una variación mayor del 1% en peso de extracto.

♦ **Obtención del extracto clorofórmico:** Se percoló el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto hexánico con aproximadamente 1000 ml ó más de cloroformo. Se siguió el procedimiento del extracto anterior.

♦ **Obtención del extracto cloroformo-metanol (9:1):** Se percoló el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto clorofórmico con aproximadamente 1000 ml ó más de cloroformo-metanol (9:1) . Se siguió el procedimiento del extracto anterior.

♦ **Obtención del extracto metanólico:** Se percoló el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto cloroformo-metanol (9:1) con aproximadamente 1000 ml ó más de metanol . Se siguió el procedimiento del extracto anterior.

♦ **Obtención del extracto acuoso:** Se pesaron 100 gramos del material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto metanólico y se hizo una infusión , seguidamente se filtró, el filtrado obtenido se sometió al proceso de liofilización. (5)

7.3.6 Ensayo farmacológico: El método que se utilizó para determinar la acción antiinflamatoria fue el método descrito por Winter y colaboradores, modificado por Sugishita y colaboradores (2,3).

PRINCIPIO: El edema fue provocado en el ratón por una inyección suplantar en la pata posterior derecha de una suspensión de caolín al 1%. El porcentaje de inhibición de la inflamación se evaluó a 1,3 y 5 horas después del inicio del experimento por pletismografía.

PROCEDIMIENTO: Se utilizaron ratones albinos machos de un peso aproximado de 25 a 30 gramos, se dividieron en 8 lotes de 4 ratones cada uno; se utilizó suspensión de caolín al 1%, fenilbutazona como fármaco de referencia a dosis de 80 mg/kg de peso (12-13) (ver anexo 2). Los grupos de 4 ratones comprenden:

- 1.- Grupo control (agua)
- 2.- Grupo referencia (fenilbutazona)
- 3.-Grupo con dosis de 100 mg/kg de peso*
- 4.-Grupo con dosis de 115 mg/kg de peso*
- 5.-Grupo con dosis de 132 mg/kg de peso*
- 6.-Grupo con dosis de 152 mg/kg de peso*
- 7.-Grupo con dosis de 175 mg/kg de peso*
- 8.-Grupo con dosis de 201 mg/kg de peso*

(*) Grupos de dosis diferentes del extracto de las hojas de la especie Tridax procumbens (hierba del toro).

Al tiempo 0 se administró el fármaco de referencia al respectivo grupo, al control se le administró solamente el vehículo en el cual se formulan los extractos, a los 6 grupos restantes se les administró oralmente las diferentes dosis de los extractos. Se midió el volumen de la pata posterior derecha de cada uno de los animales de los lotes en el Pletismómetro de agua (Letica). A los 30 minutos se les aplicó a todos los grupos de animales 0.05 ml de caolín al 1% en la aponeuresis plantar de la pata posterior derecha. El edema

producido se cuantificó por medio del Pletismómetro digital, midiendo el volumen de la pata de todos los animales de 1,3 y 5 horas de la aplicación de la inyección.

El porcentaje de inflamación para cada tratamiento a distintos tiempos se calculó según la fórmula:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{Vf_x - V_o}{V_o} \times 100$$

Vf_x = Volumen después de 1,3 y 5 horas de la inyección

V_o = Volumen normal de la pata del ratón (inicial)

Si el porcentaje de inflamación por efecto del extracto de las hojas de la especie Tridax procumbens en estudio es significativamente menor que el control se puede decir que los extractos tienen propiedad antiinflamatoria.

El porcentaje del grupo que se evaluó con fenilbutazona permite estimar la efectividad antiinflamatoria de la planta en estudio (5).

7.3.7 Ensayo toxicológico, Método de Spearman y Karber (14):

Se determinó la Dosis Letal Media (DL_{50}) al extracto que presentó el efecto antiinflamatorio significativo comparada con el fármaco de referencia. El ensayo preliminar se trabajó con ratones albinos, con un peso aproximado de 20-30 gramos procedentes de una misma camada e igual número de hembras y machos. La alimentación fue idéntica para todos los sujetos experimentales. La sustancia a ensayar se administró por vía oral, observándose estrictamente durante un período de 24 horas, esperando hasta 8 días después de la

administración para observar si se da la muerte de algún animal.

En el ensayo definitivo, se evaluaron dosis diferentes que fueron 250, 350 y 450 mg/kg de peso, observándose el comportamiento de los ratones, peso y número de animales muertos. La muerte puede manifestarse a las 1, 2, 4, 6, 24 y 48 horas y un máximo de 8 días o bien morir instantáneamente o pocos minutos después de administrar la dosis. Los signos precursores de muerte pueden ser temblores, sialorrea, sudores, espasmos respiratorios, convulsiones, etc. Para obtener los resultados de la toxicidad del extracto se aplicó la fórmula de Karber y Behrens:

$$DL_{50} = Df - (a \times b) / n$$

en donde:

a = suma de muertos de lotes consecutivos/2

b = diferencia entre las 2 dosis consecutivas

Df = primera dosis que mata a todos los animales

n = número de animales por lote.

7.3.8 Caracterización fitoquímica: Se realizó un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro. Se utilizó además, técnicas cromatográficas (CCF) convencionales (ver anexo 5) para la caracterización fitoquímica preliminar, esto se llevó a cabo en el extracto que presentó mejor respuesta antiinflamatoria. (15).

7.3.8.1 Ensayo macro y semimicro:

7.3.8.1.1 ALCALOIDES:

* **Ensayo de coloración:** Se tomó el volumen equivalente a 25g de extracto de material vegetal o 1 g de extracto. Se evaporó en baño de maría hasta consistencia de miel. Se adicionó 5 ml de ácido clorhídrico 2N y se agitó. Se filtró. Al filtrado se le adicionó unas gotas de hidróxido de amonio al 10% hasta pH 8 a 9. Posteriormente se extrajo con 3 porciones de 10 ml de cloroformo.

La fase clorofórmica: se evaporó en baño de maría, y se redisolvió el residuo en 5 ml de ácido clorhídrico 2N y se agitó y filtró. Se dividió en 4 tubos.

Tubo 1: Se le agregó 5 gotas del reactivo de Mayer's.

Tubo 2: Se le agregó 5 gotas del reactivo de Dragendorff.

Tubo 3: Se le agregó 5 gotas del reactivo de Wagner.

Tubo 4: Tubo testigo.

La fase acuosa: Se le adicionó ácido clorhídrico 2N hasta pH ácido. Se filtró y a la solución clara se le dividió en 4 tubos y se procedió como en la fase clorofórmica.

Como control positivo se usaron soluciones al 1% de atropina y papaverina, luego durante 2 horas se observó si existía precipitado o turbidez o precipitación de complejo.

* **Cromatografía en capa fina:** a 1 gramo de material vegetal seco se le agregó 1 ml de hidróxido de amonio al 10% y 5 ml de metanol. Se colocó en baño de maría a 60°C 5 minutos. Se aplicó en cromatoplasmas de sílica gel 60F₂₅₄. Se usó como standard una solución al 1% de papaverina y atropina en metanol.

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10)

n-butanol-ácido acético-agua (4:1:1)

n-butanol-ácido acético-agua (10:2:1)

Revelador: Dragendorff.

7.3.8.1.2 TANINOS:

* **Ensayo de coloración:** Se evaporó un volumen equivalente a 10g de extracto de metanol al 80% del material vegetal. Se añadió 25 ml de agua caliente al residuo y agitó con varilla y se dejó enfriar. Se agregó 1 ml de solución de NaCl al 10% y filtró. Se adicionó 3 ml de filtrado a 4 tubos de ensayo:

Tubo 1: Testigo

Tubo 2: 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1%

Tubo 3: 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1% de gelatina y NaCl al 10%).

Tubo 4: 3 a 4 gotas de solución de FeCl₃ al 10%.

Se observó si existía la formación de precipitado y/o cambios de color.

7.3.8.1.3 FLAVONOIDES:

* **Ensayo de coloración:** 5 gramos del extracto se hidrolizaron con HCl 2N mediante reflujo y calentamiento por media hora. El extracto hidrolizado se partió con eter dietílico y se tomó la fase etérica (4ml), se reconcentró a sequedad, se redisolvió con etanol al 80% y se dividió en 4 tubos de ensayo haciéndoles lo siguiente:

Tubo 1: testigo

Tubo 2: Se le agregó magnesio metálico y 3 gotas de HCL concentrado

Tubo 3: Se le agregó 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado

Tubo 4: Se le agregó 3 gotas de $FeCl_3$ al 10%.

Se evaluaron reacciones y cambios de coloración con el tubo testigo.

* **Cromatografía en capa fina:** 1 gramo de material vegetal seco se extrajo con 10 ml de metanol por 5 minutos en baño de maría a $60^{\circ}C$. Se filtró y la solución clara se aplicó a cromatoplasas. Como estándar se emplearon soluciones al 0.05% de flavonoides.

Fase móvil: acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:27)

Revelador: Reactivo de productos naturales-polietilenglicol:

Solución 1: solución metanólica al 1% de difenilboriloxitetilamina (NP).

Solución 2: solución etanólica al 5% de polietilenglicol 4000 (PEG).

7.3.8.1.4 SAPONINAS:

* Test de espuma:

Tubo 1: 0.5 mg del extracto

Tubo 2: 2 ml de control de saponinas.

Tubo 3: 2 ml de agua.

A cada tubo se le adicionó 10 ml de agua destilada. Se calentaron en baño de maría 30 minutos . Se enfriaron los tubos y se taparon; se agitaron 30 a 40 segundos. Se dejaron reposar 2 horas. Se observó si existía una capa de espuma persistente por más de una hora.

*Cromatografía en capa fina: 2 gramos de material vegetal seco, se extrajeron con 10ml de etanol al 70% con reflujo por 10 minutos. Se evaporaron a 5ml. Se aplicó en cromatoplasmas.

Estándar: saponinas al 1% en metanol

Fase móvil: cloroformo-metanol-agua (64:50:10)

n-butanol-ácido acético-agua (50:10:40)

No se detectan sin tratamiento químico en UV a 254 y 365nm.

Reveladores: vainillina-ácido sulfúrico.

anisaldehído-ácido sulfúrico.

7.3.8.1.5 ANTRAQUINONAS

* Ensayos de coloración:

Test de Borträger: Se evaporó en baño de maría un volumen equivalente a 3 gramos de extracto de material vegetal o extracto. Se disolvió el residuo con 30 ml de agua destilada y se filtró. Se extrajo con 10 ml de benceno. A la capa bencénica se añadió 5 ml de solución de test de amonio y se agitó. Se observó si existían cambios de color en la fase alcalina.

Test de Borträger modificado: A 0.3 gramos de extracto se le agregó 10 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0.5 N y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 3% y se calentó 10 minutos en baño de maría. Se añadió 10 gotas de ácido acético glacial para acidificar. Se extrajo con 10 ml de benceno. A la capa bencénica se le adicionó 5 ml de solución test de amonio y se mezcló. Se observó si existían cambios de color en fase bencénica.

*** Cromatografía en capa fina:** 0.5 gramos de material vegetal se extrajo con 5 ml de metanol en baño de maría por 5 minutos. Se filtró y se aplicó en cromatoplaca. Soluciones al 0.1% en metanol de antraquinonas.

Fase móvil: acetato de etilo-metanol- agua (100:17:13)

acetato de etilo-metanol-agua (110:13.5:10)

Revelador: hidróxido de potasio al 5 o 10 % alcohólico.

7.3.8.1.6 CUMARINAS

* Ensayo de coloración:

Se tomaron 5 ml de extracto de material vegetal, se le agregó 1 ml de agua hirviendo. Con capilar se aplicó 2 manchas en un papel filtro. A una mancha se le agregó una gota de hidróxido de potasio 0.5M. Se observa fluorescencia en el UV 365nm.

* Cromatografía en capa fina:

A un gramo de material vegetal se le adicionó 10ml de metanol y se calentó 30 minutos en baño de maría. Se filtró y evaporó hasta 1ml. Se aplicó en cromatoplasmas. Se usó solución de canela como estándar al 1% en metanol.

Fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7)

Revelador: Hidróxido de potasio al 5% o 10% alcohólico

7.3.8.1.7 PRINCIPIOS AMARGOS

* Cromatografía en capa fina:

1 gramo de material vegetal con 10 ml de metanol se calentó en baño de maría a 60°C por 10 minutos. Se evaporó y se llevó el filtrado a 2 ml, se aplicó en cromatoplasmas.

Estándar: artemisina al 1% en metanol

Fase móvil: cloroformo-metanol (95:5)

Revelador: Anisaldehído-ácido sulfúrico

7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL: El diseño a utilizar es uno de bloques completos aleatorizados con 6 tratamientos (100, 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso).

Se trata que estas dosis tuvieran la mayor equivalencia con las dosis ensayadas en infusiones y que presentaron actividad antiinflamatoria a 750 y 1000 mg/kg de peso de las hojas de Tridax procumbens.

7.4.1 Integración del diseño:

7.4.1.1 Tratamientos :

- * Control negativo (grupo control agua)
- * Control positivo (grupo fármaco de referencia)
- * Grupo del extracto hexánico a dosis n
- * Grupo del extracto clorofórmico a dosis n
- * Grupo del extracto clorofórmico-metanol (9:1) a dosis n
- * Grupo del extracto metanólico a dosis n
- * Grupo del extracto acuoso a dosis n

En donde n = 1,2,3,4,5 y 6 dosis que se van a ensayar, lo que implica que el modelo se repitió 6 veces.

7.4.1.2 Bloques: Los tratamientos se evaluaron en 3 días diferentes y cada día constituye un bloque de diseño, lo que implicó que existieran 3 bloques en total (día 1, día 2, día 3 = bloque 1, bloque 2, bloque 3).

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

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

$$NC = 2.58 + 0.842$$

$$NC = 3.44$$

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

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

$$\Delta^2$$

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

$$n_j = \frac{2(3.422)^2 \sigma^2}{4 \sigma^2}$$

$$n_j = \frac{2(3.422)^2}{4} = 5.8$$

$$4$$

Aproximando este valor da 6, como valor de n_j , que debió ser el valor mínimo de repeticiones que se realizaron para cada tratamiento. Por lo tanto se realizaron 4 repeticiones o réplicas por bloque, lo que da un valor n_j de:

$$n_j = \text{bloques} \times \text{de réplicas} = 3 \times 4 = 12$$

En donde 12 es el número total de repeticiones que se realizó por tratamiento, lo que cumple con que n_j sea mayor o igual a 6 (5).

7.4.2.4 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 si existe diferencia entre los tratamientos, se realizó la prueba de Dunnett, para evaluar el efecto antiinflamatorio de los tratamientos frente al control negativo. Nivel de significancia ($p < 0.05$) (5)

8.- RESULTADOS

8.1 Rendimiento de la extracción:

Para la realización de los extractos se utilizaron 187 gramos de la hoja seca de Tridax procumbens (hierba del toro), de los cuales se obtuvieron 2.51 % de extracto hexánico, 0.82 % de extracto clorofórmico, 2.7 % de extracto cloroformo-metanol 9:1, 1.5 % de extracto metanólico y 3.4 % de extracto acuoso. Evaluándoles la actividad antiinflamatoria.

8.2 Farmacología experimental

8.2.1 Ensayo toxicológico:

Se evaluó la Dosis Letal Media (DL₅₀) del extracto cloroformo-metanol (9:1), que fue el que presentó la mejor respuesta antiinflamatoria, en ratones albinos de 25 y 30 gramos de peso. No se observaron cambios en el comportamiento de los animales de experimentación a dosis de 250, 350 y 450 mg/kg de peso. Tampoco se observó muerte de ninguno de los sujetos experimentales. Por lo tanto la toxicidad aguda es mayor de 450 mg/kg de peso para el extracto evaluado de Tridax procumbens.

8.2.2 Ensayo antiinflamatorio:

Las tablas y las gráficas que detallan los resultados de la evaluación antiinflamatoria se presentan a continuación.

TABLA No. 1

Tabla de valores de diseño

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo. Extracto hexánico.

AREA BAJO LA CURVA

Día	Ratón	Control	FBTZ 80mg/ka	Dosis 100mg/ka	Dosis 115mg/ka	Dosis 132mg/k	Dosis 152mg/ka	Dosis 175mg/ka	Dosis 201mg/ka
1	1	0.86	0.52	0.72	0.81	0.75	0.68	0.73	0.63
1	2	0.52	0.64	0.79	0.72	0.76	0.69	0.68	0.71
1	3	0.83	0.60	0.87	0.79	0.71	0.63	0.59	0.72
1	4	0.79	0.64	0.68	0.76	0.80	0.72	0.63	0.59
2	1	0.88	0.71	0.87	0.87	0.75	0.77	0.80	0.67
2	2	0.59	0.60	0.72	0.76	0.72	0.72	0.66	0.72
2	3	0.83	0.63	0.84	0.79	0.80	0.68	0.76	0.56
2	4	0.84	0.68	0.84	0.90	0.84	0.71	0.71	0.76
3	1	0.88	0.75	0.87	0.80	0.79	0.72	0.72	0.68
3	2	0.84	0.61	0.71	0.76	0.79	0.74	0.80	0.75
3	3	0.87	0.71	0.84	0.84	0.80	0.69	0.65	0.80
3	4	0.71	0.79	0.75	0.76	0.84	0.71	0.71	0.84
Promedio		0.79	0.66	0.79	0.80	0.78	0.70	0.70	0.70
Desv. St.		0.12	0.07	0.07	0.05	0.04	0.07	0.07	0.07
Coef Var.		15.08	11.37	9.06	6.50	5.57	9.08	9.08	9.08

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	0.24	7	0.03	7.80
BLOQUES	0.06	2	0.03	7.19
ERROR	0.39	87	0.00	
TOTAL	0.70	96		

COMPARACIONES			DUNNETT
FBTZ	-0.13	(p<0.05)	0.07
DOSIS 100mg/kg	0.01	(NS)	
DOSIS 115 mg/kg	0.01	(NS)	
DOSIS 132mg/kg	-0.01	(NS)	
DOSIS 152mg/kg	-0.08	(p<0.05)	
DOSIS 175mg/kg	-0.08	(p<0.05)	
DOSIS 201mg/kg	-0.08	(p<0.05)	

Los resultados obtenidos de la prueba de DUNNET nos indica que las diferencias de las medias de los tratamientos presentan diferencia a dosis de 152, 175 y 201 mg/kg. de peso en comparación con el control (-).

GRAFICA No.1

Valores Promedio de la variable respuesta área bajo la curva del porcentaje de inflamación vrs. tiempo del extracto hexánico de la especie Tridax procumbens

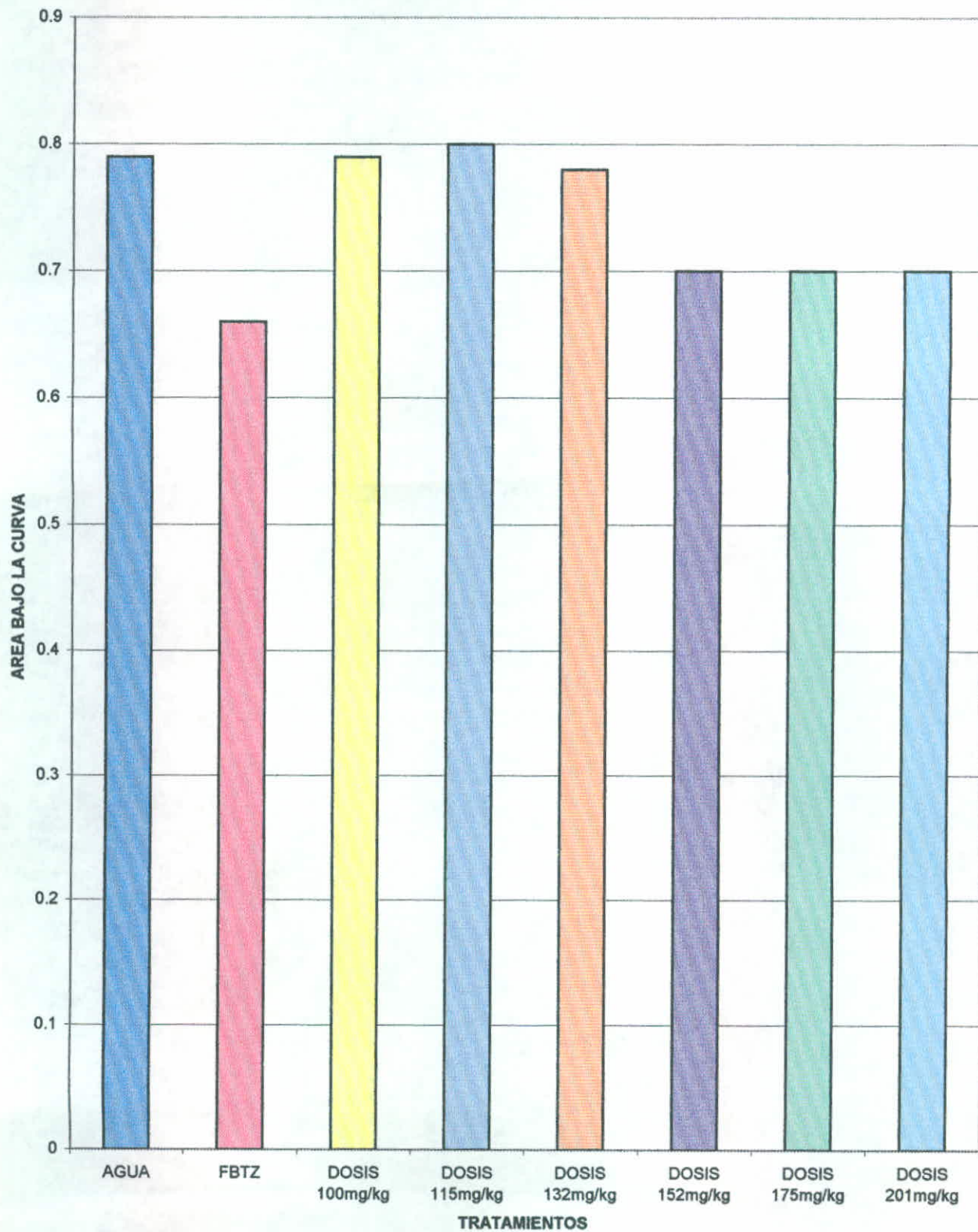


TABLA No. 2

Tabla de valores de diseño

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo. Extracto clorofórmico.

AREA BAJO LA CURVA

Día	Ratón	Control	FBTZ	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis
			80mg/ka	100mg/ka	115mg/ka	132mg/k	152mg/ka	175mg/ka	201mg/ka
1	1	0.72	0.56	0.81	0.75	0.63	0.68	0.73	0.64
1	2	0.76	0.64	0.72	0.71	0.68	0.72	0.68	0.60
1	3	0.72	0.60	0.76	0.76	0.75	0.72	0.59	0.60
1	4	0.92	0.64	0.79	0.80	0.83	0.76	0.63	0.64
2	1	0.83	0.71	0.87	0.75	0.67	0.77	0.80	0.65
2	2	0.92	0.60	0.76	0.72	0.76	0.77	0.68	0.71
2	3	0.96	0.68	0.79	0.76	0.83	0.68	0.76	0.60
2	4	0.80	0.63	0.83	0.83	0.85	0.76	0.71	0.72
3	1	0.84	0.75	0.84	0.79	0.71	0.72	0.72	0.49
3	2	0.92	0.60	0.72	0.79	0.86	0.79	0.80	0.27
3	3	0.76	0.71	0.76	0.80	0.90	0.69	0.71	0.52
3	4	0.87	0.77	0.80	0.82	0.98	0.78	0.65	0.65
Promedio		0.84	0.66	0.79	0.77	0.79	0.73	0.70	0.61
Desv. St.		0.08	0.07	0.05	0.04	0.10	0.09	0.09	0.05
Coef Var.		10.05	10.05	5.86	4.88	13.31	11.03	11.02	12.03

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	0.46	7	0.07	16.39
BLOQUES	0.05	2	0.03	6.50
ERROR	0.35	87	0.00	
TOTAL	0.85	96		

COMPARACIONES			DUNNETT
FBTZ	-0.18	(p<0.05)	0.09
DOSIS 100mg/kg	-0.05	(NS)	
DOSIS 115 mg/kg	-0.06	(NS)	
DOSIS 132mg/kg	-0.05	(NS)	
DOSIS 152mg/kg	-0.09	(p<0.05)	
DOSIS 175mg/kg	-0.13	(p<0.05)	
DOSIS 201mg/kg	-0.22	(p<0.05)	

Los resultados obtenidos de la prueba de DUNNET indican que las diferencias de las medias de los tratamientos presentan diferencia significativa a dosis de 152,175 y 201 mg/kg. de peso en comparación con el control (-).

GRAFICA No.2

Valores Promedio de la variable respuesta área bajo la curva del porcentaje de inflamación vs. tiempo del extracto clorofórmico de la especie Tridax procumbens.

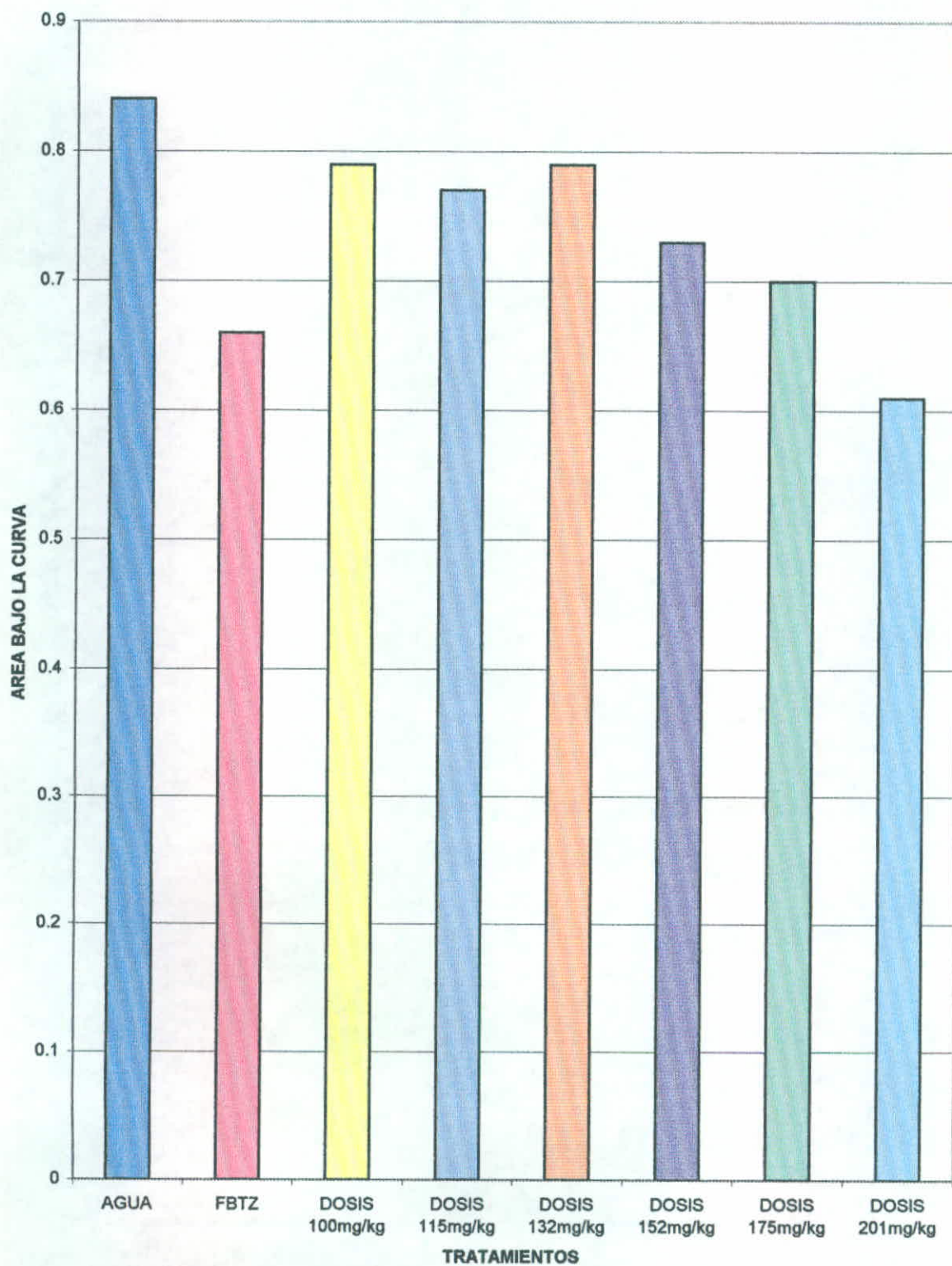


TABLA No. 3

Tabla de valores de diseño

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo. Extracto cloroformo-metanol 9:1.

AREA BAJO LA CURVA

Día	Ratón	Control	FBTZ	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis
			80ma/ka	100ma/ka	115ma/ka	132ma/k	152ma/ka	175ma/ka	201ma/ka
1	1	0.72	0.56	0.63	0.76	0.65	0.53	0.60	0.76
1	2	0.76	0.64	0.72	0.72	0.72	0.72	0.67	0.79
1	3	0.72	0.60	0.78	0.88	0.79	0.72	0.73	0.60
1	4	0.94	0.64	0.76	0.69	0.88	0.79	0.79	0.71
2	1	0.83	0.71	0.67	0.64	0.60	0.72	0.71	0.67
2	2	0.92	0.60	0.84	0.63	0.61	0.64	0.69	0.63
2	3	0.96	0.68	0.85	0.65	0.63	0.53	0.64	0.56
2	4	0.80	0.63	0.76	0.63	0.67	0.63	0.60	0.63
3	1	0.84	0.75	0.99	0.63	0.66	0.64	0.56	0.65
3	2	0.91	0.60	0.88	0.64	0.74	0.65	0.65	0.58
3	3	0.76	0.71	0.76	0.63	0.64	0.63	0.65	0.64
3	4	0.92	0.77	0.69	0.66	0.60	0.60	0.66	0.59
Promedio		0.84	0.66	0.78	0.68	0.68	0.66	0.66	0.65
Desv. St.		0.09	0.07	0.10	0.08	0.09	0.07	0.06	0.12
Coef Var.		10.49	10.05	12.86	11.09	12.53	9.98	9.45	19.03

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	0.41	7	0.06	9.65
BLOQUES	0.02	2	0.01	1.40
ERROR	0.53	87	0.01	
TOTAL	0.95	96		

COMPARACIONES			DUNNETT
FBTZ	-0.18	(p<0.05)	0.08
DOSIS 100mg/kg	-0.06	(NS)	
DOSIS 115 mg/kg	-0.16	(p<0.05)	
DOSIS 132mg/kg	-0.16	(p<0.05)	
DOSIS 152mg/kg	-0.18	(p<0.05)	
DOSIS 175mg/kg	-0.18	(p<0.05)	
DOSIS 201mg/kg	-0.19	(p<0.05)	

Los resultados obtenidos de la prueba de DUNNET indican que las diferencias de las medias de los tratamientos presentan diferencia significativa a dosis de 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg. de peso en comparación con el control (-).

GRAFICA No. 3

Valores Promedio de la variable respuesta área bajo la curva del porcentaje de inflamación vrs. tiempo del extracto cloroformo-metanol 9:1 de la especie Tridax procumbens

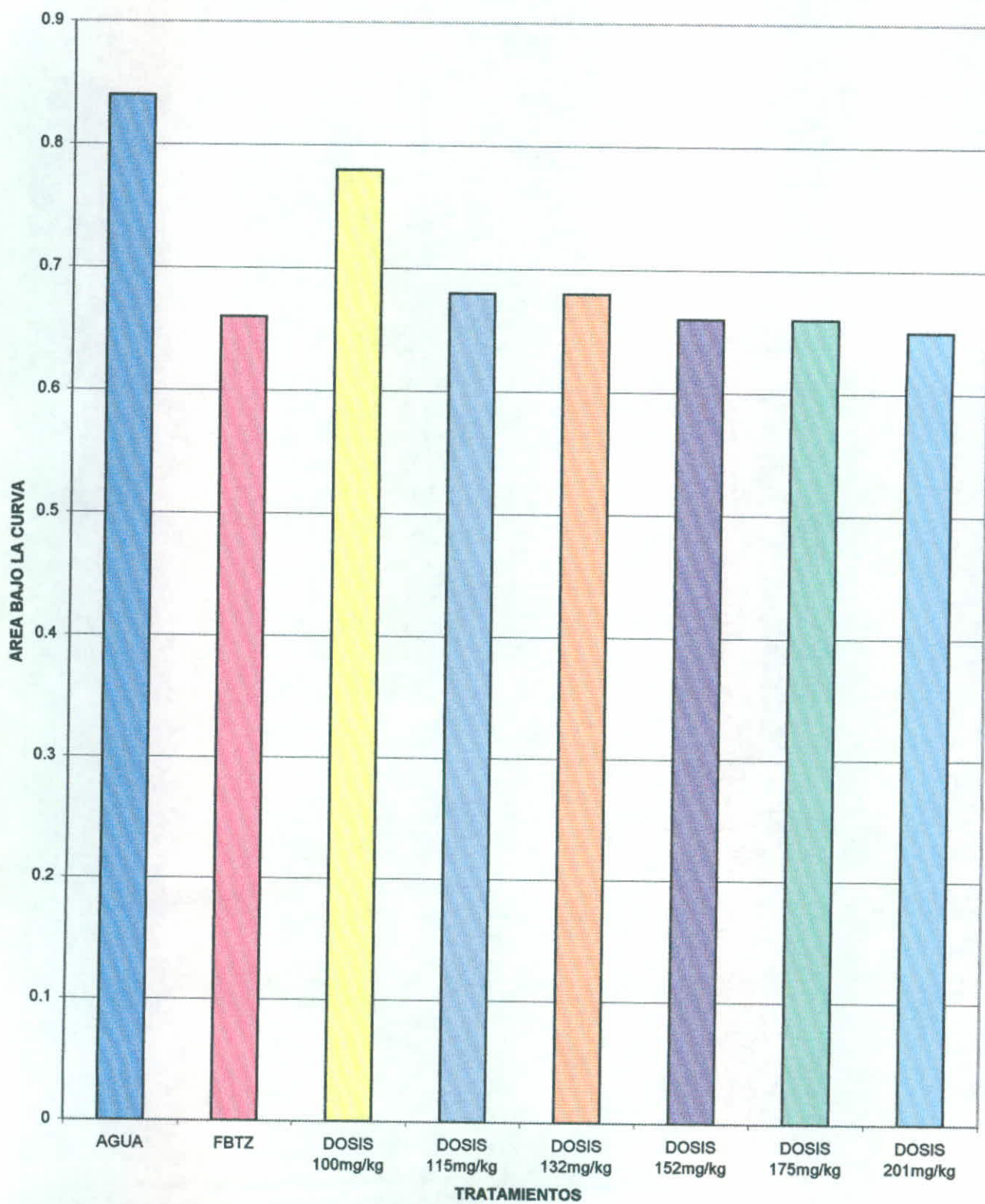


TABLA No 4

Tabla de valores de diseño

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo. Extracto metanólico.

AREA BAJO LA CURVA

Día	Ratón	Control	FBTZ	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis
			80mg/ka	100mg/ka	115mg/ka	132mg/k	152mg/ka	175mg/ka	201mg/ka
1	1	0.72	0.56	0.72	0.63	0.63	0.63	0.40	0.60
1	2	0.76	0.60	0.76	0.78	0.68	0.72	0.63	0.71
1	3	0.72	0.64	0.72	0.75	0.75	0.79	0.80	0.79
1	4	0.92	0.64	0.92	0.83	0.83	0.75	0.75	0.73
2	1	0.83	0.71	0.83	0.67	0.67	0.67	0.48	0.56
2	2	0.92	0.60	0.92	0.76	0.76	0.84	0.63	0.64
2	3	0.96	0.68	0.96	0.83	0.83	0.85	0.72	0.69
2	4	0.80	0.63	0.80	0.85	0.85	0.76	0.67	0.62
3	1	0.84	0.75	0.92	0.71	0.71	0.99	0.52	0.64
3	2	0.92	0.60	0.84	0.86	0.86	0.88	0.72	0.59
3	3	0.76	0.71	0.76	0.90	0.90	0.76	0.77	0.65
3	4	0.87	0.77	0.87	0.94	0.98	0.69	0.68	0.59
Promedio		0.84	0.66	0.84	0.78	0.79	0.79	0.65	0.65
Desv. St.		0.08	0.07	0.08	0.10	0.10	0.09	0.12	0.12
Coef Var.		10.05	10.05	10.05	12.57	13.31	11.79	19.03	19.03

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	0.56	7	0.08	10.17
BLOQUES	0.08	2	0.04	4.80
ERROR	0.68	87	0.01	
TOTAL	1.32	96		

COMPARACIONES			DUNNETT
FBTZ	-0.18	(p<0.05)	0.09
DOSIS 100mg/kg	-0.06	(NS)	
DOSIS 115 mg/kg	-0.16	(NS)	
DOSIS 132mg/kg	-0.16	(NS)	
DOSIS 152mg/kg	-0.18	(NS)	
DOSIS 175mg/kg	-0.18	(p<0.05)	
DOSIS 201mg/kg	-0.19	(p<0.05)	

Los resultados obtenidos de la prueba de DUNNET indican que las diferencias de las medias de los tratamientos presentan diferencia significativa a dosis de 175 y 201 mg/kg. de peso en comparación con el control negativo.

GRAFICA No.4

Valores promedio de la variable respuesta área bajo la curva del porcentaje de inflamación vrs. tiempo del extracto metanólico de la especie *Tridax procumbens*

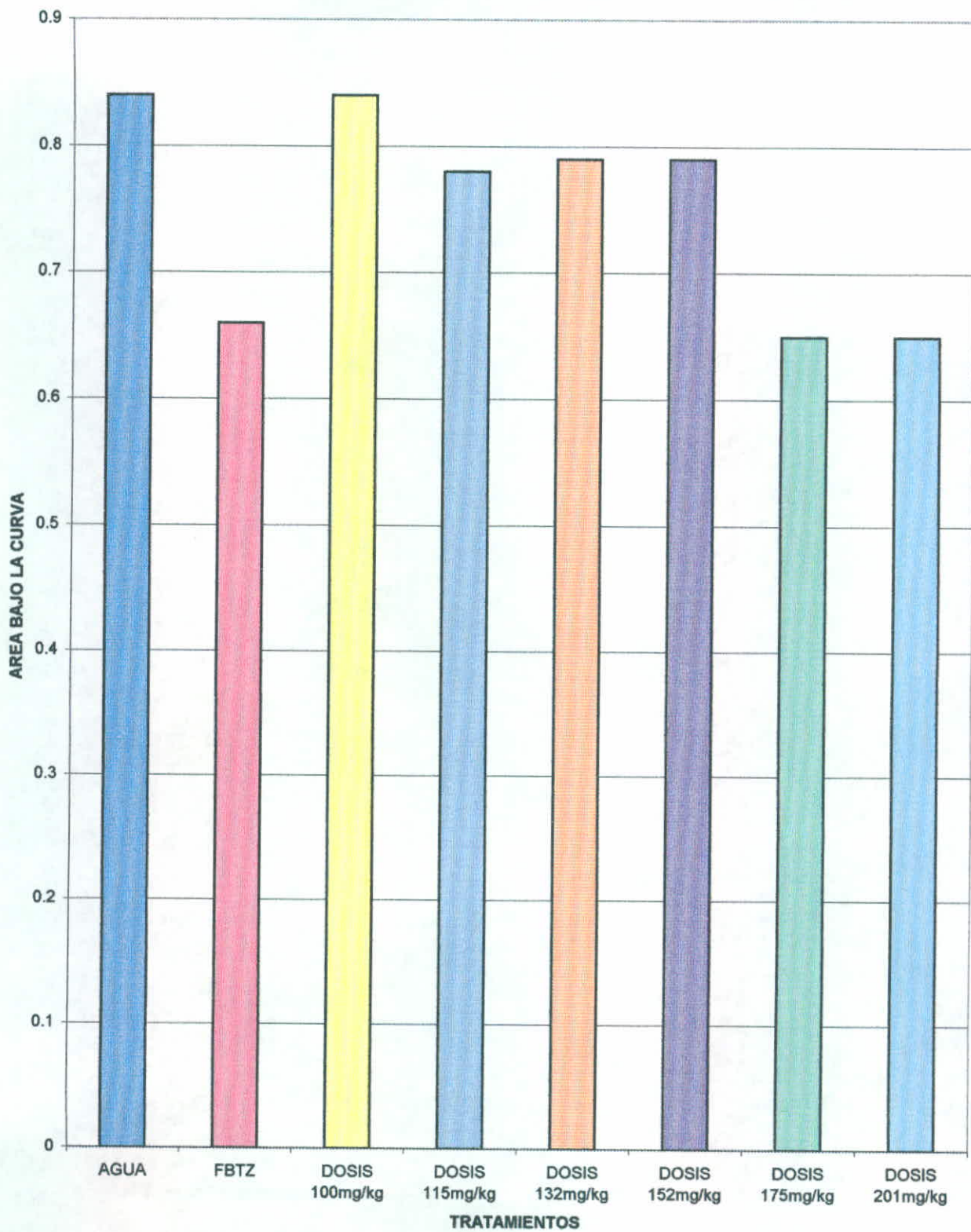


TABLA No. 5

Tabla de valores de diseño

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo. Extracto acuoso.

AREA BAJO LA CURVA

Día	Ratón	Control	FBTZ	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis
			80ma/ka	100ma/ka	115ma/ka	132ma/k	152ma/ka	175ma/ka	201ma/ka
1	1	0.72	0.62	0.40	0.63	0.76	0.76	0.65	0.56
1	2	0.76	0.60	0.59	0.72	0.79	0.72	0.72	0.72
1	3	0.72	0.60	0.76	0.79	0.60	0.69	0.79	0.73
1	4	0.92	0.64	0.75	0.75	0.71	0.88	0.88	0.79
2	1	0.83	0.60	0.47	0.67	0.67	0.64	0.60	0.72
2	2	0.91	0.65	0.63	0.84	0.63	0.63	0.61	0.63
2	3	0.80	0.53	0.73	0.85	0.56	0.69	0.63	0.64
2	4	0.96	0.66	0.66	0.76	0.63	0.59	0.67	0.56
3	1	0.84	0.49	0.52	0.99	0.65	0.63	0.66	0.60
3	2	0.87	0.57	0.76	0.88	0.59	0.64	0.74	0.65
3	3	0.76	0.52	0.80	0.76	0.64	0.63	0.64	0.64
3	4	0.92	0.65	0.66	0.69	0.59	0.66	0.60	0.63
Promedio		0.83	0.59	0.65	0.78	0.65	0.67	0.68	0.65
Desv. St.		0.08	0.06	0.13	0.10	0.07	0.08	0.08	0.12
Coef Var.		9.96	9.42	19.79	12.90	10.79	11.55	11.56	19.03

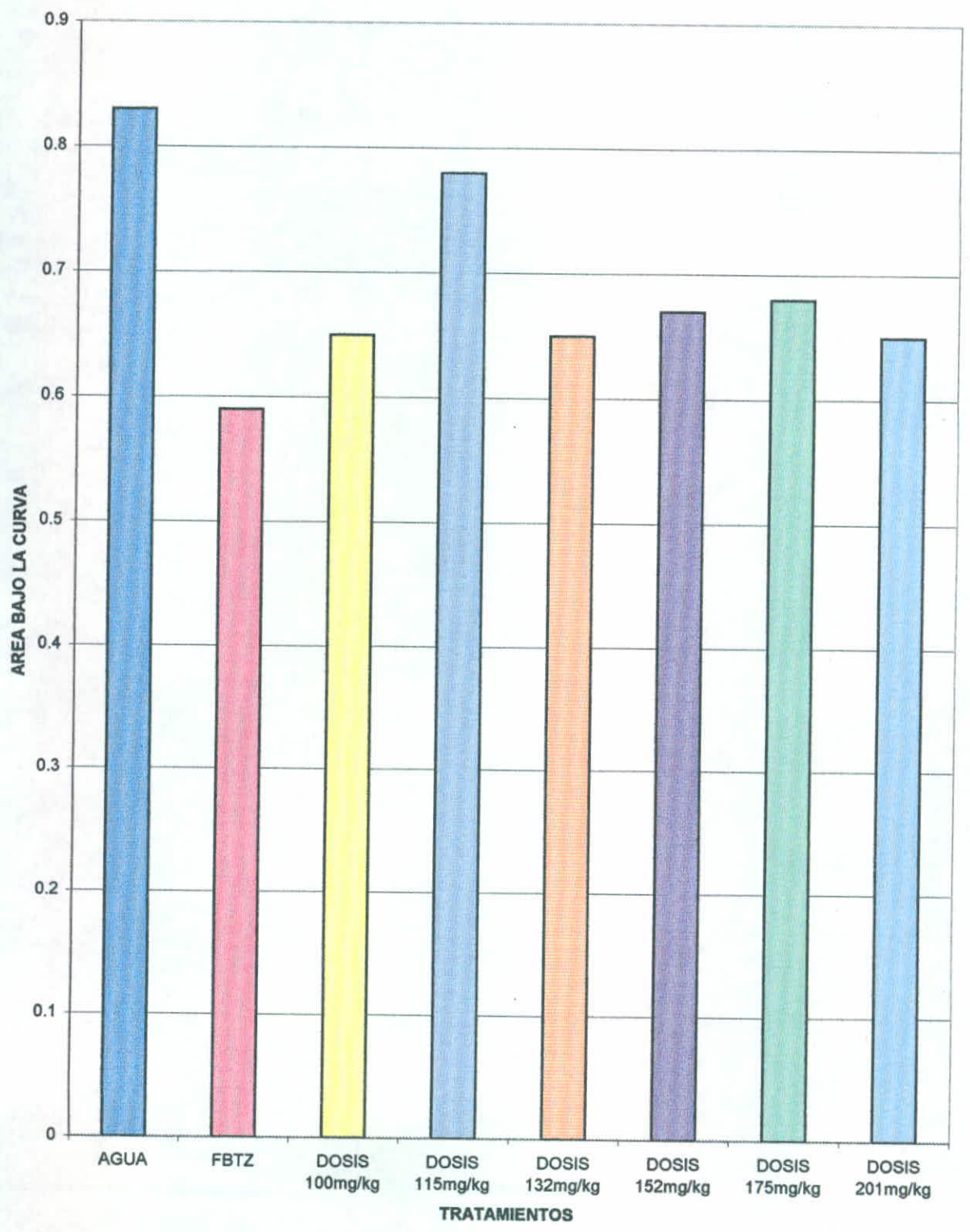
ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	0.51	7	0.07	9.84
BLOQUES	0.02	2	0.01	1.30
ERROR	0.64	87	0.01	
TOTAL	1.17	96		

COMPARACIONES			DUNNETT
FBTZ	-0.24	(p<0.05)	0.09
DOSIS 100mg/kg	-0.19	(p<0.05)	
DOSIS 115 mg/kg	-0.06	(NS)	
DOSIS 132mg/kg	-0.18	(p<0.05)	
DOSIS 152mg/kg	-0.16	(p<0.05)	
DOSIS 175mg/kg	-0.15	(p<0.05)	
DOSIS 201mg/kg	-0.18	(p<0.05)	

Los resultados obtenidos de la prueba de DUNNET nos indica que las diferencias de las medias de los tratamientos presentan diferencia significativa a dosis de 132, 152, 175 y 201 mg/kg. de peso en comparación con el control (-).

GRAFICA No.5
Valores promedio de la variable respuesta área bajo la curva del porcentaje de inflamación vrs. tiempo del extracto acuoso de la especie Tridax procumbens.



8.3 Caracterización Fitoquímica:

8.3.1 Tamizaje macro y semimicro:

A continuación se presentan las tablas con los resultados del tamizaje macro y semimicro.

TABLA No. 6

INVESTIGACION DE ALCALOIDES

Extracto	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4
Cloroformo-metanol	+	+	+	+
Std. papaverina	+++	+++	+++	+++
Std. atropina	+++	+++	+++	+++

Tubo 1: Testigo

(-): no hay precipitado

Tubo 2: Reactivo de Dragendorff.

(+): ligero precipitado

Tubo 3: Reactivo de Mayer's

(++): formación de flóculo

Tubo 4: Reactivo de Wagner

(+++): abundante precipitado

TABLA No. 7
INVESTIGACION DE TANINOS

Extracto	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4
Cloroformo- metanol	-	-	-	-

Tubo 1: Testigo (-): no hay precipitado
 Tubo 2: Gelatina 1% (+): ligero precipitado
 Tubo 3: Gelatina -NaCl (++) : formación de flóculo
 Tubo 4: Cloruro férrico al 10% (+++): abundante precipitado

TABLA No.8
INVESTIGACION DE FLAVONOIDES

Extracto	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Cloroformo	verde	verde	verde	verde	verde
metanol	amarillo	musgo	musgo	botella	musgo

Tubo 1: Testigo
 Tubo 2: Reacción de Shinoda
 Tubo 3: Acido sulfúrico concentrado
 Tubo 4: Cloruro férrico
 Tubo 5: Acido clorhídrico concentrado

TABLA No. 9

INVESTIGACION DE SAPONINAS

Extracto	Test de espuma (después de 2 horas)
Cloroformo-metanol	Ninguna formación de espuma
Std. sol. acuosa de saponinas	Abundante espuma mayor de 3 cm.

TABLA No. 10

INVESTIGACION DE ANTRAQUINONAS

Extracto	Borträger (fase bencénica)	Borträger modificado (fase bencénica)
Cloroformo-metanol	verde arveja	amarillo

TABLA No. 11
INVESTIGACION DE CUMARINAS

Extracto	Sin tratamiento Químico (365nm)	Tratamiento con KOH alcohólico 0.5M (365nm)
Cloroformo-metanol	fluorescencia azul	fluorescencia verde-azul
Estándar solución	negativo	intensa fluorescencia verde azul

8.3.2 Cromatografía en capa fina:

En los resultados de la caracterización fitoquímica empleando cromatografía en capa fina, se citan solamente las fases móviles con las cuales se obtuvieron mejores separaciones, así como el extracto que presentó mejor respuesta antiinflamatoria y que evidenció la presencia de metabolitos específicos.

TABLA No. 12

FLAVONOIDES

		Medios Físicos	Cromógenos Químicos
Extracto	Rf	Luz ultravioleta (previo formar cromógeno) 365 nm	Reactivo de productos naturales- polietilén-glicol
Cloroformo- metanol	0.02	naranja-verde	naranja
	0.05	naranja claro	naranja
	0.08	naranja oscuro	naranja oscuro
	0.10	naranja oscuro	naranja oscuro
	0.67	Celeste	Celeste
	0.85	naranja	naranja
	0.90	naranja	naranja

Fase móvil: Acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético glacial/agua
(100:11:11:27)

TABLA No. 13
ANTRAQUINONAS

Extracto	Rf	Medios Físicos	Cromógenos Químicos
		Luz ultravioleta (previo formar cromógeno) 365 nm	Solución alcohólica de KOH al 10%
Cloroformo-	0.12	Celeste violeta	Violeta
metanol	0.22	Amarillo	Amarillo oscuro
	0.31	Naranja	Naranja oscuro
	0.37	Naranja oscuro	Naranja oscuro
	0.54	Naranja claro	Naranja oscuro
	0.79	Naranja café	Mostaza
	0.83	Naranja café	Mostaza
	0.89	Naranja café	Mostaza
	0.96	Naranja	Naranja oscuro

Fase móvil: Acetato de etilo/metanol/agua (100:17:13)

TABLA No. 14
PRINCIPIOS AMARGOS

Extracto	Rf	Cromógenos Químicos
		Anisaldehído ácido sulfúrico
Cloroformo- metanol	0.01	Amarillo
	0.04	Café
	0.06	Naranja
	0.09	Celeste
	0.84	Naranja
	8.88	Amarillo-verde

Fase móvil : Cloroformo/metanol (95:5)

9.- DISCUSION DE RESULTADOS

9.1 Farmacología Experimental:

➤ Ensayo toxicológico:

El extracto cloroformo-metanol (9:1) fue el que mayor actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa presentó por lo que se realizó el ensayo toxicológico a dosis de 250, 350 y 450 mg/kg de peso, no observándose ningún cambio en el comportamiento de los animales, ni muerte alguna, determinando con ello que la DL₅₀ para el extracto cloroformo-metanol (9:1) de la especie Tridax procumbens es mayor de 450 mg/kg de peso.

➤ Ensayo antiinflamatorio:

- **Extracto hexánico:** De acuerdo al análisis estadístico de DUNNET se demostró actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 152, 175 y 201 mg/kg de peso del extracto de las hojas de la especie Tridax procumbens ver pagina 27-29, 71-73 (tabla 1,15; gráfica 1).
- **Extracto clorofórmico :** Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 152, 175 y 201 mg/kg de peso no así a la de 100 ,115 y 132 mg/kg de peso. ver pagina 30-32; 74-76 (tabla 2,16; gráfica 2).

- **Extracto cloroformo-metanol (9:1):** Los resultados obtenidos para este extracto demostraron que presenta una actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso en comparación con el control (-), lo que se puede inferir que en dicho extracto se encuentra la mayor cantidad de metabolitos secundarios ver página 33-35; 77-79 (tabla 3,17; gráfica 3).
- **Extracto metanólico:** Las dosis que presentaron una actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa fueron de 175 y 201 mg/kg de peso en comparación con el control negativo ver página 36-38; 80-82 (tabla 4,18 gráfica 4).
- **Extracto acuoso:** Dicho extracto presenta actividad estadísticamente significativa a dosis de 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso. ver pagina 39-41; 83-85 (tabla 5,19 gráfica 5).

9.2 Tamizaje macro y semimicro:

Se ha reportado que los alcaloides generalmente ejercen algún tipo de actividad farmacológica, usualmente sobre el sistema nervioso central (16).

Los flavonoides actualmente se utilizan para la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes, entre las actividades biológicas que presenta este grupo de metabolitos secundarios esta la de dilatar las coronarias, espasmolíticos, acción antihepatotóxica, antimicrobiana y fungitóxica. (4,17)

Las antraquinonas son utilizadas como colorantes y se emplean en medicina por su acción catártica. (4,17).

Sobre los taninos se ha encontrado evidencia de su valor potencial como agentes citotóxicos y/o antineoplásicos. Su actividad biológica radica en su carácter astringente, su propiedad de coagular las albúminas de las mucosas y de los tejidos, creando así una capa de coagulación aislante y protectora, que reduce la irritación y el dolor. (4,18).

Las saponinas son poderosos agentes tensioactivos, que además ocasionan hemólisis a bajas concentraciones. Son de gran importancia en la Industria Farmacéutica, ya que las saponinas esteroidales pueden utilizarse como precursores en la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos. (4,17).

Las propiedades que poseen estos metabolitos secundarios determinan la importancia de realizar un tamizaje macro y semimicro del extracto que presentó la mejor respuesta antiinflamatoria, obteniéndose los siguientes resultados.

- **Alcaloides:** Los resultados no proporcionan evidencia concluyente en lo referente a la presencia o ausencia de Alcaloides (ver tabla No. 6, pagina 42).
- **Taninos:** Los resultados no proporcionan evidencia concluyente en lo referente a la presencia o ausencia de taninos (ver tabla No. 7, pagina 43).
- **Flavonoides:** Por los resultados de precipitación y coloración se presume la presencia de flavonoides. (ver tabla No. 8 pagina 43).
- **Saponinas:** Los resultados no proporcionan evidencia concluyente en lo referente a la presencia o ausencia de Saponinas. (ver tabla No. 9 pagina 44).
- **Antraquinonas:** Por los resultados de precipitación y coloración se presume la presencia de Antraquinonas. (ver tabla No. 10 pagina 44).
- **Cumarinas :** Por los resultados obtenidos se presume la presencia de Cumarinas (ver tabla No. 11 pagina 45).

9.3 Tamizaje por medios cromatográficos:

- **Flavonoides:** Se presume la presencia de flavonoles y flavonas según bibliografía (15) debido a la coloración celeste y naranja que presentó dando un Rf de 0.67 y 0.02, 0.05, 0.08, 0.10, 0.85, 0.90 respectivamente.(ver tabla No. 12 pagina 46).
- **Antraquinonas:** Se presume la presencia de antronas y antranoles según bibliografía (15) por la coloración amarillo que presentó dando valores de Rf de 0.22, 0.31, 0.37, 0.54, 0.83 y 0.96. (Ver tabla No. 13 pagina 47).
- **Principios Amargos:** Se presume la presencia de amanogentinas según bibliografía (15) por la coloración amarillo que presentó dando valores de Rf de 0.01 y 8.88. (Ver tabla No. 14 pagina 48).

10.- CONCLUSIONES

10.1 De los cinco extractos evaluados de la especie Tridax procumbens (hierba del toro) , el extracto cloroformo-metanol (9:1) posee actividad estadísticamente significativa a dosis de 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso presentando así la mayor capacidad antiinflamatoria.

10.2 En el ensayo toxicológico los ratones evaluados no presentaron síntomas de intoxicación a las dosis de 250, 350 y 450 mg/kg de peso. Por lo que se estima que la dosis letal media DL_{50} para el extracto cloroformo-metanol 9:1 es mayor de 450mg/kg de peso.

10.3 Existe evidencia preliminar de la presencia de Flavonoides del tipo flavonas y flavonoles así como de Antraquinonas del tipo antronas y antranoles y de Principios amargos del tipo amanogentinas , según cromatografía en capa fina. Ver pagina 46-48 (tabla 12-14).

11.- RECOMENDACIONES

11.1 Que se haga del conocimiento de la población guatemalteca los resultados obtenidos en este tipo de investigación.

11.2 Que se incentive más la investigación en el estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

11.3 Que se continúe el estudio farmacológico Fase III para la especie Tridax procumbens hasta aislar el principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria.

11.4 Que en un futuro se realice la formulación, producción de productos fitoterapéuticos partiendo de una planta piloto.

12.- REFERENCIAS

- 12.1 Ciulei I, Practical on the industrial Utilization of Medicinal Plants, Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucarest: Fac. of Farmacy. 1982. 72p.
- 12.2 Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw or the rats as assay for anti-inflammatory drugs. Proc Soc Exp. Biol. Med. 1962; III: 544-547.
- 12.3 Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rat. J Pharm. Dyn. 1981. 565-575.
- 12.4 Medinilla B. Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica Departamento de Análisis Aplicado. 1996. 38p.
- 12.5 Echeverría A. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA, *in vivo* de Brassica oleraceae var. Capitata L. (repollo), Equisetum giganteum L. (cola de caballo) y Tridax procumbens (hierba del toro) Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1992 56p.

- 12.6 Vázquez Alfaro T. ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LA ACTIVIDAD ANALGESICA DE INFUSIONES DE LAS HOJAS DE Solanum nigrescens (macuy), Piper auritum (Santa María) y Tridax procumbens (hierba del toro) Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1997 84p. 4-6p.
- 12.7 Barahona S. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD TRIPANOSTATICA *IN VIVO* DE TRES ESPECIES VEGETALES DE LA FAMILIA ASTERACEAE DE USO COMUN EN EL TRATAMIENTO DE PROTOZOARIASIS EN GUATEMALA, Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) . 1995 59p. 42P.
- 12.8 Alvarado M. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIESPASMODICA *in vitro* de y Tridax procumbens (hierba del toro) y Petiveria alliaceae (apacín). Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) . 1995 5p.
- 12.9 Cáceres A. Samayoa B. Tamizaje de la Actividad Antimicrobiana de las Plantas Usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Guatemala: Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1989. 138p. (p. 81-82, 111).

- 12.10 Neeta B, Ram S, Patil BD. Evaluación of some Planta Extracts as Pbteclants against The Pulse Beette. Bio Abst, 1987;78: 183-187.
- 12.11 Prakash D, Tillo L. Dulkarni D. Influence os Tridax procumbens on wound Heling; Effect of the Plant Biol. Abst. 1983;70 404-460.
- 12.12 Litter M. Farmacología 7ª. Edición Buenos Aires: Al ateneo. 1988. 1872p. (p. 1329-1335).
- 12.13 Gennaro AR. Comp. Remington Farmacia 17ª. Edición Marino Ma, trad Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. Vols2, Vol.2. 1987. 2723p. (p.1522).
- 12.14 Spearman G, Karber DJ. Finner statiscal method in Biological assay. London: C.H. Griffin and Co., 1,952. 524p.
- 12.15 H. Wagner S. Blandt E.M. Zgainsdki. Plant Drug Analysis. Berlin Heiderlberg. 1984. 320p. (p. 163-174, 228-239).

- 12.16 Solis M. de D. Determinación de la Actividad Antiinflamatoria de *Crescentia alata* HBK (morro). Guatemala: Universidad de San Carlos . (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1998 61p.
- 12.17 Domínguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. Centro Regional de Ayuda Técnica. México: Editorial Limusa. 1973. 281. (pp. 22-67).
- 12.18 Morton JI. Atlas of medicinal plants of Middle América, Bahamas to Yucatan. USA: Charles E. Thomas. Vols.2, vol.1, 1981. XXVIII + 1420 p. (p. 255-256, 745-747).
- 12.19 Basile U. Instrucion Manual Uarese. Italy: Biological Research Apparatus 21025 Comerio, 1988. 24p. (p2).

13.- ANEXOS
INDICE DE ANEXOS

- Anexo No. 1 Descripción, Clasificación Botánica, Nombres comunes, origen y distribución, composición química, y usos populares. de la especie Tridax procumbens
- Anexo No. 2 Farmacología Fenilbutazona
- Anexo No. 3 Solución Pletismómetro
- Anexo No. 4 Conceptos Farmacognósticos
- Anexo No. 5 Conceptos Cromatográficos
- Anexo No. 6 Resultados ensayo antiinflamatorio

ANEXO 1

CLASIFICACION Y DESCRIPCION BOTANICA DE
Tridax procumbens (hierba del toro)

CLASIFICACION:

Reino	Vegetal
Sub-reino	Embryobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	Tridax
Especie	<u>Tridax procumbens</u> (5)

DESCRIPCION:

Hierba perenne de base leñosa, tallos ramificados, 15-50 cm de largo, algunas veces enraizados en los nódulos, esparcidos, a veces vellosas, los tallos y las ramas se encuentran vueltos al derecho.

Hojas opuestas, con peciolo corto, limbo rómbico, de 2-7 cm de largo, agudas o puntiagudas en el ápice, de color verde oscuro, los márgenes fuertemente dentados o serrados, hirsuto en el envés; frecuentemente escabroso en el haz.

Flores en cabezuelas radiadas (parecidas a las margaritas), solitarias, terminales, en pedúnculos desnudos comúnmente de 10-20 cm de lardo,

hirsutos, con vellos diseminados; involucro campanulados puntiagudos de 5 a 8 mm de largo; filarios biseriados, paleas persistentes aproximadamente de 8 mm de largo, frecuentemente estriados, próximos a la cima, las flores del radio de 6 lígulas de color amarillo pálido o blanquecinas, sub biculares y oblongas de 3-5 mm de largo, 2-3 lóbulos; flores del disco amarillas de 5-7 mm de largo.

Aquenios negruzcos, de 2.5 mm de largo, pilosos, la cima truncada, la corona de eriza con aproximadamente 20 plumonos, los aquenios del radio se reducen a 2 mm de largo (5).

NOMBRES COMUNES:

Hierba del toro, cadillo, chicasa, curagusano, hierba de San Juan, romerillo de loma, Sn Juan del Monte. (18).

ORIGEN Y DISTRIBUCION:

Crece silvestremente en lugares húmedos y secos; se encuentra en los campos con maleza y montañas, frecuentemente en suelos arenosos, corriendo al o largo de su base, es frecuente encontrarla en terrenos baldíos a 2300 m.s.n.m.

Nativa de México y Centro América, introducida y naturalizada en Florida, trópico de Africa, Asia Meridional, América del Sur, Bahamas, Occidente de la India, El Caribe y en los trópicos del Viejo Mundo.

En Guatemala se ha descrito en Alta Verapáz, Chimaltenango, Escuintla, Guatemala, Izabal, Petén, Quiché, Retahuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez, Zacapa, El progreso y Chiquimula. (5).

COMPOSICION QUIMICA:

Las hojas y tallos contienen un alcaloide desconocido. En las revisiones efectuadas, no se encontró información sobre la composición fitoquímica de esta especie. (6).

USOS POPULARES:

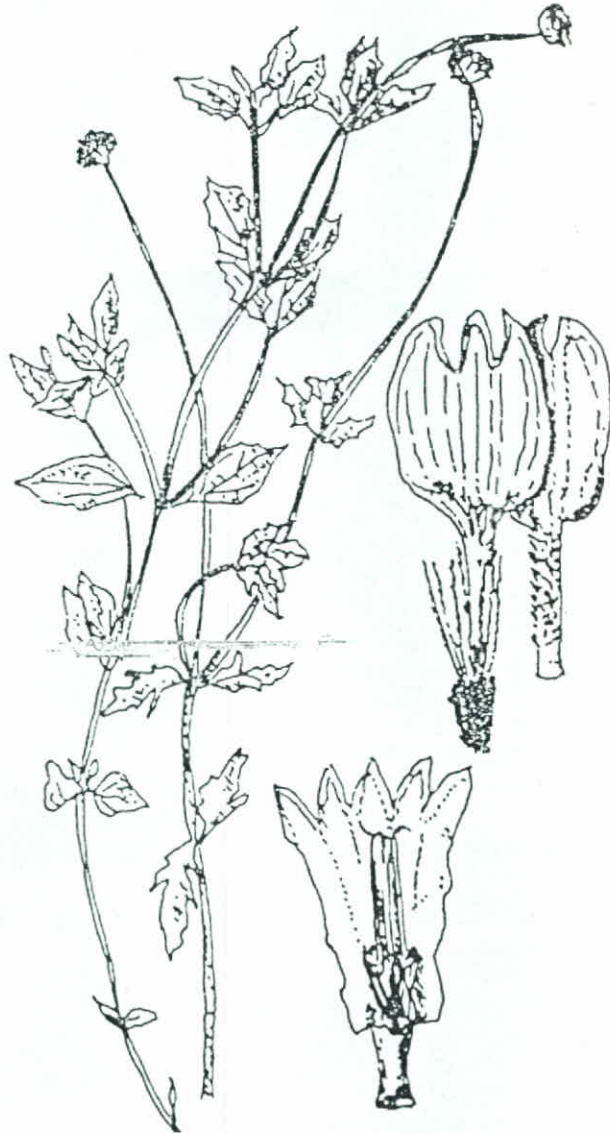
La decocción de la planta es utilizada como febrífugo, tratamiento para la anemia, dolor de cabeza, alergia, hipertensión, diabetes, vaginitis, catarros, enfermedades hepáticas y trastornos menstruales.

Las hojas son utilizadas en cataplasmas, las cuales son fritas con manteca de cerdo y se aplica en inflamaciones. En el oriente de Guatemala, las hojas son aplicadas como cebos para destruir larvas de insectos.

En afecciones gastrointestinales se usa para tratar diarrea, dolor de estómago, gastritis, flatulencia, parasitosis intestinales y estreñimiento. (5-6).

HIERBA DEL TORO

Tridax procumbens
(Asteraceae/Compositae)



ANEXO 2

FARMACOLOGIA DE FENILBUTAZONA

Compuesto de origen sintético que deriva del pirazol compuesto heterocíclico con 2 átomos de nitrógeno y de carbono, la Fenilbutazona y su sal soluble, deriva de su forma enólica, es una pirazolidinadiona, con dos funciones cetónicas y un grupo fenilo agregado.

Acción antiinflamatoria:

Se observa en procesos reumáticos crónicos, en los del tipo inflamatorio, como artritis reumatoidea, acción antirreumática, disminuyendo el dolor, la tumefacción, la rigidez articular. En el ataque agudo de gota, producen inhibición rápida del proceso inflamatorio agudo.

Acción analgésica:

Midiendo la acción analgésica por elevación de umbral del dolor, puede observarse una analgesia con esas drogas semejantes a los salicilatos; en pacientes con dolor somático producido por fracturas, en el postoperatorio y postparto se ha observado una evidente disminución de la intensidad del dolor como también en procesos reumáticos, artritis reumatoidea, osteoartritis o artrosis y fibrosis.

Farmacocinética y metabolismo:

La Fenilbutazona se absorbe en forma rápida y completa en vías gastrointestinales. Después de usar dosis terapéuticas, más de 98% del medicamento se liga a proteínas plasmáticas. La vida media de la fenilbutazona en plasma es muy larga de 50 a 65 horas.

La fenilbutazona pasa por transformación metabólica extensa en los seres humanos. La oxifenbutazona, uno de sus metabolitos posee actividades antirreumáticas y de retención des odio similares a las del compuesto original. La oxifenbutazona también se liga ampliamente a proteínas plasmáticas y su

vida media en el plasma es de varios días. Se acumula en grado significativo durante la administración de fenilbutazona a largo tiempo y contribuye a los efectos farmacológicos y tóxicos del producto original.

Interacciones Medicamentosas:

La fenilbutazona puede desplazar de su sitio de unión a proteínas plasmáticas a otros antiinflamatorios, anticoagulantes e hipoglucemiantes orales, sulfonamidas y otros fármacos. El resultado neto depende del medicamento y de su biotransformación y eliminación después de ser desplazado. Dicho desplazamiento contribuye, por lo menos en parte, al mayor riesgo perfectamente documentado de hemorragia si se administran de modo concomitante fenilbutazona y warfarina; de mayor importancia, la fenilbuazona también disminuye la eliminación del estereoisomero más activo de la warfarina. El desplazamiento de la hormona tiroidea ligada a proteínas plasmáticas por parte de la fenilbutazona complica la interpretación de los resultados de función tiroidea.

Toxicidad:

Es una droga tóxica y las reacciones adversas son bastante frecuentes, variando entre el 23 y 44 %. Los trastornos pueden ser gastrointestinales (estos consisten en náuseas, vómitos, diarrea y a veces estomatitis ulcerosa; es posible la producción o reactivación de úlceras gastroduodenales (pépticas) con hemorragia digestiva y aún perforación), edemas (se producen por retención de sodio y agua; no son muy frecuentes, pero dicha retención puede seguirse de insuficiencia cardíaca), erupciones cutáneas (eritematosas, paulosas, vesiculares y purpúricas, de origen alérgico, alergia tipos I,II y III), hepatitis (con ictericia, de ser grave), alteraciones nerviosas (vértigos, alteraciones visuales, excitación o depresión nerviosa), y transtornos sanguíneos (anemia, que puede ser aplástica, leucopenia, trombocitopenia, agranulocitosis).

Aplicaciones Terapéuticas:

En la actualidad, la fenilbuazona no se considera el fármaco más indicado en transtorno alguno, aunque a veces es usado para combatir la gota aguda, y en artritis reumatoide y cuadros similares. La fenilbutazona debe utilizarse sólo después de comprobar la ineficiencia de otros medicamentos y ello únicamente luego de una consideración cuidadosa de los riesgos que entraña su consumo en comparación con las ventajas que tienen para el enfermo. Aún más, ha de proporcionarse sólo en exacerbaciones agudas de gota o artritis reumatoide y no en el tratamiento a largo plazo. No es adecuada la utilización indiscriminada de la fenilbutazona en la terapéutica de trastornos musculoesqueléticos agudos o crónicos de poca importancia. (12).

ANEXO 3

SOLUCION PARA EL PLETISMOMETRO

La solución que utiliza el pletismómetro digital Ugo Basile Cat. No. 7150 se prepara de la siguiente manera:

El compuesto de mojado provisto (4 a 5 ml/l) el cual minimiza gotas y la formación del menisco para medidas más exactas.

Cerca de 6 milimoles de un cloruro univalente de un metal alcalino (NaCl, LiCl, RbCl, CsCl). En la práctica 0.4 a 0.5 g/l de sal común (NaCl) en 0.3 a 0.4 gramos para el reservorio de 0.7 litros.

Todo lo anterior se agrega al agua destilada. (19).

ANEXO 4

CONCEPTOS FARMACOGNOSICOS

El término extracción desde el punto de vista Farmacéutico se refiere a la separación de porciones medicinales 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 relativamente impuros, semisólidos o sólidos, utilizados como elixires, extractos pilulares, extractos pulverizados o fluídos, jarabes, tinturas, decocciones e infusiones.

Existen diferentes métodos para la extracción de drogas crudas para la obtención de la porción terapéutica activa y eliminar el material inerte mediante el tratamiento con un solvente selectivo, conocido como MENSTRUO. Entre los principales métodos de extracción se encuentran la maceración, percolación o lixiviación, digestión, infusión, decocción, destilación y extracción continua.

PERCOLACION:

Este es el procedimiento más utilizado para extraer los ingredientes activos en la preparación de tinturas y extractos fluídos. Se utiliza un percolador, es decir, un recipiente con forma de cono, más o menos estrecho, con dos extremos abiertos. Los ingredientes sólidos humedecidos con una cantidad apropiada de solvente, se deja en reposo durante aproximadamente cuatro horas en un recipiente bien cerrado, y luego se coloca dentro del percolador.

Se añade suficiente solvente para saturar el material vegetal, y se tapa la parte superior del percolador. En el momento en que el líquido comienza a gotear a través del cuello del percolador, se cierra el orificio de salida. Se añade solvente adicional de manera que haya una capa superficial de solventes

sobre el material vegetal, y la mezcla se deja en maceración dentro del percolador cerrado, durante 24 horas.

Transcurrido este tiempo, se abre el orificio del percolador, y se deja gotear lentamente el líquido, añadiéndose suficiente solvente extra, según se requiera.

El material sólido que ha quedado, se saca, se filtra a través de manta o gasa, presionando fuertemente, y el líquido obtenido se añade al percolador, el cual posteriormente es clarificado mediante filtración o decantación. Luego que se ha obtenido una solución de los constituyentes activos puede utilizarse para producir ciertas tinturas o extractos fluidos, o puede ser procesado posteriormente para producir un extracto sólido o semisólidos.(4).

ANEXO 5

CONCEPTOS CROMATOGRÁFICOS

Dentro de las diferentes técnicas cromatográficas, la Cromatografía en capa fina es la que se aplica en mejor forma para el análisis de productos naturales. Este método requiere solo una pequeña inversión en instrumentos, poco tiempo para el análisis (15-60) minutos, así como cantidades mínimas de muestra.

Por otro lado, son poco probables los resultados falsos debido a componentes secundarios, el espacio que requiere es mínimo. y el manejo de la técnica es simple.

Cromatografía en capa fina:

Es un método de separación fisicoquímico. Sobre una cromatoplaca de vidrio se coloca una delgada capa de material granular (fase estacionaria). La mezcla a separar, en forma de solución, se aplica sobre dicha superficie, ya sea como manchas o bandas, a lo largo de la línea base. Luego que la cromatoplacas

se ha colocado dentro de una cámara firmemente cerrada que contienen un solvente adecuado (fase móvil), se efectúa la separación a través de migración capilar (desarrollo).

Normalmente la distancia que se deja correr el solvente es de aproximadamente 10cm. En caso que el valor de R_f obtenido sea bajo, puede dejarse que la placa se seque al aire durante unos 5-10 minutos, y luego se coloca nuevamente dentro de la cámara cromatográfica, hasta que el solvente recorra 10cm de distancia. Con esto se duplica el grado de separación. (4).

ANEXO 6

TABLA No. 15

Porcentaje de Inflamación vrs. Tiempo del Extracto hexánico de las hojas de la especie Tridax procumbens

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación vrs. Tiempo.

Ensayo: Control (-) Agua destilada

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.21	0.13	0.2	0.19	0.22	0.14	0.2	0.21	0.22	0.21	0.21	0.17	0.19	0.03	15.68
2	0.21	0.13	0.21	0.2	0.22	0.15	0.21	0.21	0.22	0.21	0.22	0.18	0.2	0.03	14.82
3	0.22	0.13	0.21	0.2	0.22	0.15	0.21	0.21	0.22	0.21	0.22	0.18	0.2	0.03	15.02
Area	0.86	0.52	0.85	0.79	0.88	0.59	0.83	0.84	0.88	0.84	0.87	0.71			

Ensayo: Control (+) Fenilbutazona

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.15	0.18	0.15	0.18	0.19	0.16	0.02	9.88
2	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.18	0.19	0.17	0.02	10.17
3	0.14	0.16	0.15	0.16	0.17	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.17	0.2	0.16	0.02	10.54
Area	0.56	0.64	0.6	0.64	0.71	0.6	0.68	0.63	0.75	0.6	0.71	0.77			

Ensayo: Dosis 100 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.20	0.22	0.17	0.22	0.18	0.21	0.21	0.22	0.18	0.21	0.19	0.20	0.02	8.20
2	0.18	0.20	0.22	0.17	0.22	0.18	0.21	0.21	0.22	0.18	0.21	0.19	0.20	0.02	8.20
3	0.18	0.19	0.21	0.17	0.21	0.18	0.21	0.21	0.21	0.17	0.21	0.18	0.19	0.02	8.91
Area	0.72	0.79	0.87	0.68	0.87	0.72	0.84	0.84	0.87	0.71	0.84	0.75			

Ensayo: Dosis 115 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.20	0.18	0.19	0.19	0.21	0.19	0.19	0.21	0.20	0.19	0.21	0.19	0.20	0.01	5.09
2	0.20	0.18	0.20	0.19	0.22	0.19	0.20	0.23	0.20	0.19	0.21	0.19	0.20	0.01	7.07
3	0.21	0.18	0.20	0.19	0.22	0.19	0.20	0.23	0.20	0.19	0.21	0.19	0.20	0.01	7.19
Area	0.81	0.72	0.79	0.76	0.87	0.76	0.79	0.90	0.80	0.76	0.84	0.76			

Ensayo: Dosis 132mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.19	0.17	0.20	0.18	0.18	0.20	0.21	0.19	0.19	0.20	0.21	0.19	0.01	6.61
2	0.19	0.19	0.16	0.20	0.19	0.18	0.20	0.21	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20	0.01	5.09
3	0.19	0.19	0.18	0.20	0.19	0.18	0.20	0.21	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20	0.01	5.09
Area	0.75	0.76	0.71	0.80	0.75	0.72	0.80	0.84	0.79	0.79	0.80	0.84			

Ensayo: Dosis 152 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.19	0.19	0.18	0.20	0.20	0.21	0.19	0.21	0.21	0.21	0.20	0.12	0.20	0.01	5.22
2	0.17	0.18	0.16	0.18	0.19	0.18	0.17	0.17	0.18	0.18	0.17	0.18	0.18	0.01	4.51
3	0.15	0.14	0.13	0.16	0.19	0.15	0.15	0.16	0.15	0.17	0.15	0.14	0.15	0.02	10.15
Area	0.68	0.69	0.73	0.72	0.77	0.72	0.68	0.71	0.72	0.74	0.69	0.71			

Ensayo: Dosis 175 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.19	0.17	0.15	0.16	0.20	0.17	0.19	0.18	0.18	0.20	0.17	0.18	0.18	0.02	8.57
2	0.18	0.17	0.15	0.16	0.20	0.17	0.19	0.18	0.18	0.20	0.16	0.18	0.18	0.02	8.81
3	0.18	0.17	0.14	0.15	0.20	0.17	0.19	0.17	0.18	0.20	0.16	0.17	0.17	0.02	10.58
Area	0.73	0.68	0.59	0.63	0.80	0.68	0.76	0.71	0.72	0.80	0.65	0.71			

Ensayo: Dosis 201 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.15	0.17	0.18	0.14	0.16	0.18	0.14	0.19	0.17	0.18	0.20	0.21	0.17	0.02	12.87
2	0.16	0.18	0.18	0.15	0.17	0.18	0.14	0.19	0.17	0.19	0.20	0.21	0.18	0.02	11.41
3	0.16	0.18	0.18	0.15	0.17	0.18	0.14	0.19	0.17	0.19	0.20	0.21	0.18	0.02	11.41
Area	0.63	0.71	0.72	0.50	0.67	0.72	0.58	0.76	0.68	0.75	0.80	0.84			

TABLA No. 16

Porcentaje de Inflamación vrs. Tiempo del Extracto cloroformico de las hojas
de la especie Tridax procumbens

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo.

Ensayo: Control (-) Agua destilada

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.19	0.18	0.23	0.2	0.23	0.24	0.2	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.2
2	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.08
3	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.21	0.19	0.23	0.21	0.02	9.99
Area	0.72	0.76	0.72	0.92	0.83	0.92	0.96	0.8	0.84	0.87	0.76	0.92			

Ensayo: Control (+) Fenilbutazona

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.15	0.18	0.15	0.18	0.19	0.16	0.02	9.88
2	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.18	0.19	0.17	0.02	10.17
3	0.14	0.16	0.15	0.16	0.17	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.17	0.2	0.16	0.02	10.54
Area	0.56	0.64	0.6	0.64	0.71	0.6	0.68	0.63	0.75	0.6	0.71	0.77			

Ensayo: Dosis 100 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.20	0.18	0.19	0.19	0.21	0.19	0.19	0.20	0.21	0.18	0.19	0.20	0.19	0.01	50.13
2	0.20	0.18	0.19	0.20	0.22	0.19	0.20	0.20	0.21	0.18	0.19	0.20	0.20	0.01	6.15
3	0.21	0.18	0.19	0.20	0.22	0.19	0.20	0.21	0.21	0.18	0.19	0.20	0.20	0.01	6.39
Area	0.81	0.72	0.76	0.79	0.87	0.76	0.79	0.83	0.84	0.72	0.76	0.80			

Ensayo: Dosis 115 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.18	0.17	0.19	0.20	0.18	0.18	0.19	0.20	0.19	0.19	0.20	0.20	0.19	0.01	5.27
2	0.19	0.18	0.19	0.20	0.19	0.18	0.19	0.21	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20	0.01	5.13
3	0.19	0.18	0.19	0.20	0.19	0.18	0.19	0.21	0.20	0.20	0.20	0.20	0.19	0.01	4.64
Area	0.75	0.71	0.76	0.80	0.75	0.72	0.76	0.83	0.79	0.79	0.80	0.82			

Ensayo: Dosis 132mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.17	0.18	0.20	0.16	0.19	0.20	0.22	0.17	0.20	0.21	0.23	0.19	0.02	12.89
2	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.25	0.20	0.03	13.63
3	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.25	0.25	0.03	10.85
Area	0.63	0.68	0.75	0.83	0.67	0.76	0.83	0.85	0.71	0.86	0.90	0.98			

Ensayo: Dosis 152 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.19	0.19	0.18	0.20	0.20	0.21	0.19	0.20	0.21	0.21	0.20	0.21	0.20	0.01	5.0
2	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.17	0.19	0.18	0.19	0.17	0.19	0.18	0.01	4.75
3	0.15	0.17	0.18	0.18	0.19	0.18	0.15	0.18	0.15	0.19	0.15	0.19	0.20	0.02	8.44
Area	0.68	0.72	0.72	0.76	0.77	0.77	0.68	0.76	0.72	0.79	0.69	0.78			

Ensayo: Dosis 175 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.19	0.17	0.15	0.16	2.00	0.17	0.19	0.18	0.18	0.20	0.17	0.17	0.18	0.02	8.70
2	0.18	0.17	0.15	0.16	0.20	0.17	0.19	0.18	0.18	0.20	0.18	0.16	0.18	0.02	8.81
3	0.18	0.17	0.14	0.15	0.20	0.17	0.19	0.17	0.18	0.20	0.18	0.16	0.17	0.02	10.52
Area	0.73	0.68	0.59	0.63	0.80	0.68	0.76	0.71	0.72	0.80	0.71	0.65			

Ensayo: Dosis 201 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.19	0.19	0.18	0.20	0.17	0.20	0.18	0.21	0.14	0.17	0.16	0.20	0.18	0.02	10.99
2	0.15	0.14	0.15	0.16	0.16	0.17	0.14	0.18	0.12	0.14	0.13	0.16	0.15	0.02	11.37
3	0.15	0.13	0.12	0.12	0.16	0.17	0.14	0.15	0.11	0.12	0.10	0.13	0.13	0.02	15.78
Area	0.64	0.60	0.60	0.64	0.65	0.71	0.60	0.72	0.49	0.57	0.52	0.65			

TABLA No. 17

Porcentaje de Inflamación vrs. Tiempo del Extracto Cloroformo-metanol 9:1
de las hojas de la especie Tridax procumbens

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo.

Ensayo: Control (-) Agua destilada

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.19	0.18	0.23	0.2	0.23	0.24	0.2	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.2
2	0.18	0.19	0.18	0.24	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.23	0.19	0.23	0.21	0.02	10.79
3	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.23	0.19	0.23	0.21	0.02	10.35
Area	0.72	0.76	0.72	0.94	0.83	0.92	0.96	0.8	0.84	0.91	0.76	0.92			

Ensayo: Control (+) Fenilbutazona

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.15	0.18	0.15	0.18	0.19	0.16	0.02	9.88
2	0.14	0.16	0.15	0.16	0.18	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.18	0.19	0.17	0.02	10.17
3	0.14	0.16	0.15	0.16	0.17	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.17	0.2	0.16	0.02	10.54
Area	0.56	0.64	0.6	0.64	0.71	0.6	0.68	0.63	0.75	0.6	0.71	0.77			

Ensayo: Dosis 100 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.18	0.19	0.18	0.16	0.21	0.22	0.19	0.24	0.22	0.19	0.18	0.19	0.03	13.5
2	0.16	0.18	0.20	0.19	0.17	0.21	0.21	0.19	0.25	0.22	0.19	0.17	0.20	0.03	12.84
3	0.16	0.18	0.19	0.20	0.17	0.21	0.21	0.19	0.25	0.22	0.19	0.17	0.20	0.03	12.84
Area	0.63	0.72	0.76	0.76	0.67	0.84	0.85	0.76	0.99	0.88	0.76	0.69			

Ensayo: Dosis 115 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.19	0.18	0.22	0.16	0.16	0.16	0.14	0.18	0.16	0.16	0.15	0.15	0.17	0.02	13.01
2	0.19	0.18	0.22	0.18	0.16	0.16	0.17	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.02	11.06
3	0.19	0.18	0.22	0.17	0.16	0.15	0.17	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.02	11.95
Area	0.76	0.72	0.88	0.69	0.64	0.63	0.65	0.63	0.63	0.64	0.63	0.66			

Ensayo: Dosis 132mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.17	0.18	0.19	0.22	0.15	0.15	0.15	0.16	0.17	0.17	0.16	0.23	0.17	0.02	11.95
2	0.16	0.18	0.20	0.22	0.15	0.15	0.16	0.17	0.16	0.19	0.16	0.25	0.17	0.02	13.08
3	0.16	0.18	0.20	0.22	0.15	0.15	0.16	0.17	0.17	0.19	0.16	0.25	0.25	0.02	8.84
Area	0.65	0.72	0.79	0.88	0.60	0.61	0.63	0.67	0.66	0.74	0.64	0.98			

Ensayo: Dosis 152 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.14	0.18	0.18	0.19	0.18	0.16	0.14	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.16	0.02	10.20
2	0.14	0.18	0.18	0.20	0.18	0.16	0.14	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.16	0.02	10.85
3	0.14	0.18	0.18	0.20	0.18	0.16	0.14	0.15	0.16	0.17	0.16	0.15	0.20	0.02	9.16
Area	0.56	0.72	0.72	0.79	0.72	0.64	0.56	0.63	0.64	0.65	0.63	0.60			

Ensayo: Dosis 175 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.16	0.18	0.19	0.17	0.16	0.16	0.15	0.14	0.16	0.17	0.17	0.17	0.01	8.76
2	0.15	0.17	0.18	0.20	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.16	0.16	0.17	0.17	0.02	8.78
3	0.15	0.17	0.19	0.20	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.17	0.16	0.17	0.17	0.02	10.22
Area	0.60	0.67	0.73	0.79	0.71	0.69	0.64	0.60	0.56	0.65	0.65	0.68			

Ensayo: Dosis 201 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.19	0.19	0.15	0.17	0.16	0.15	0.14	0.15	0.17	0.11	0.16	0.15	0.16	0.02	13.84
2	0.19	0.20	0.15	0.18	0.17	0.16	0.14	0.16	0.16	0.15	0.16	0.15	0.16	0.02	10.85
3	0.19	0.20	0.15	0.18	0.17	0.16	0.14	0.16	0.16	0.15	0.16	0.14	0.16	0.02	11.48
Area	0.76	0.79	0.60	0.71	0.67	0.63	0.56	0.63	0.65	0.56	0.64	0.59			

TABLA No. 18

Porcentaje de Inflamación vrs. Tiempo del Extracto metanólico de las hojas de
la especie Tridax procumbens

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación
vrs. Tiempo.

Ensayo: Control (-) Agua destilada

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.19	0.18	0.23	0.2	0.23	0.24	0.2	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.2
2	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.08
3	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.2	0.21	0.21	0.19	0.23	0.21	0.02	9.99
Area	0.72	0.76	0.72	0.92	0.83	0.92	0.96	0.8	0.84	0.87	0.76	0.92			

Ensayo: Control (+) Fenilbutazona

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.14	0.15	0.16	0.16	0.18	0.15	0.17	0.15	0.18	0.15	0.18	0.19	0.16	0.02	9.88
2	0.14	0.15	0.16	0.16	0.18	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.18	0.19	0.17	0.02	10.17
3	0.14	0.15	0.16	0.16	0.17	0.15	0.17	0.16	0.19	0.15	0.17	0.2	0.16	0.02	10.54
Area	0.56	0.6	0.64	0.64	0.71	0.6	0.68	0.63	0.75	0.6	0.71	0.77			

Ensayo: Dosis 100 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.18	0.19	0.18	0.23	0.20	0.23	0.24	0.20	0.23	0.21	0.19	0.22	0.21	0.02	10.20
2	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.20	0.23	0.21	0.19	0.22	0.21	0.02	10.08
3	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.24	0.20	0.23	0.21	0.19	0.21	0.20	0.02	10.41
Area	0.72	0.76	0.72	0.92	0.83	0.92	0.96	0.80	0.92	0.84	0.76	0.87			

Ensayo: Dosis 115 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.17	0.18	0.20	0.16	0.19	0.20	0.22	0.17	0.20	0.21	0.23	0.19	0.02	12.89
2	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.23	0.20	0.02	12.24
3	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.25	0.20	0.02	13.62
Area	0.63	0.68	0.75	0.83	0.67	0.76	0.83	0.85	0.71	0.86	0.90	0.94			

Ensayo: Dosis 132mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.17	0.18	0.20	0.16	0.19	0.20	0.22	0.17	0.20	0.21	0.23	0.19	0.02	12.89
2	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.25	0.20	0.03	13.62
3	0.16	0.17	0.19	0.21	0.17	0.19	0.21	0.21	0.18	0.22	0.23	0.25	0.25	0.03	10.85
Area	0.63	0.68	0.75	0.83	0.67	0.76	0.83	0.85	0.71	0.86	0.90	0.98			

Ensayo: Dosis 152 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.15	0.18	0.19	0.18	0.16	0.21	0.22	0.19	0.24	0.22	0.19	0.18	0.19	0.03	13.50
2	0.16	0.18	0.20	0.19	0.17	0.21	0.21	0.19	0.25	0.22	0.19	0.17	0.20	0.03	12.84
3	0.16	0.18	0.20	0.19	0.17	0.21	0.21	0.19	0.25	0.22	0.19	0.17	0.20	0.03	12.52
Area	0.63	0.72	0.79	0.75	0.67	0.84	0.85	0.76	0.99	0.88	0.76	0.69			

Ensayo: Dosis 175 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.10	0.15	0.20	0.18	0.12	0.15	0.18	0.16	0.13	0.18	0.14	0.17	0.16	0.03	18.76
2	0.10	0.16	0.20	0.19	0.12	0.16	0.18	0.17	0.13	0.18	0.21	0.17	0.16	0.03	20.03
3	0.10	0.16	0.20	0.19	0.12	0.16	0.18	0.17	0.13	0.18	0.21	0.17	0.16	0.03	20.30
Area	0.40	0.63	0.80	0.75	0.48	0.63	0.72	0.67	0.52	0.72	0.77	0.68			

Ensayo: Dosis 201 mg/kg

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3						
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Prome dio	Desv. St.	Coef. Var.
1	0.10	0.15	0.20	0.18	0.12	0.15	0.18	0.16	0.13	0.18	0.14	0.17	0.16	0.03	18.76
2	0.10	0.16	0.20	0.19	0.12	0.16	0.18	0.17	0.13	0.18	0.21	0.17	0.16	0.03	20.03
3	0.10	0.16	0.20	0.19	0.12	0.16	0.18	0.17	0.13	0.18	0.21	0.17	0.16	0.03	20.30
Area	0.40	0.63	0.80	0.75	0.48	0.63	0.72	0.67	0.52	0.72	0.77	0.68			

TABLA No. 19

Porcentaje de Inflamación vrs. Tiempo del Extracto acuoso de las hojas de la especie Tridax procumbens

Variable respuesta: Valores de área bajo la curva porcentaje de inflamación vrs. Tiempo.

Ensayo: Control (-) Agua destilada

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.18	0.19	0.18	0.23	0.2	0.23	0.2	0.24	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.2
2	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.23	0.2	0.24	0.21	0.22	0.19	0.23	0.21	0.02	10.08
3	0.18	0.19	0.18	0.23	0.21	0.22	0.2	0.24	0.21	0.21	0.19	0.23	0.21	0.02	9.67
Area	0.72	0.76	0.72	0.92	0.83	0.91	0.8	0.96	0.84	0.87	0.76	0.92			

Ensayo: Control (+) Fenilbutazona

Tiempo (Hrs)	DIA 1				DIA 2				DIA 3				Promedio	Desv. St.	Coef. Var.
	% DE INFLAMACIÓN														
x	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4	Y1	Y2	Y3	Y4			
1	0.19	0.19	0.18	0.2	0.17	0.2	0.18	0.21	0.14	0.17	0.16	0.2	0.18	0.02	10.99
2	0.15	0.14	0.15	0.16	0.15	0.16	0.12	0.16	0.12	0.14	0.13	0.16	0.15	0.02	10.40
3	0.13	0.13	0.12	0.12	0.13	0.13	0.11	0.13	0.11	0.12	0.1	0.13	0.13	0.01	7.92
Area	0.62	0.6	0.6	0.64	0.6	0.65	0.53	0.66	0.49	0.57	0.52	0.65			



Virna Graciela Rivas Romero

Autora



Licda. Marta Inés Reyes Mayén

Asesora



Licda. Lucrecia Peralta de Madriz

Licda. Lucrecia Peralta de Madriz

Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

Decana