

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



Estudio Farmacológico de los Extractos
etanólico, hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso de las hojas de
Catopheria chiapensis (Linimento) como analgésico. Fase II.

NANCY JUDITH VIELMAN CUYUN

Química Farmacéutica

Guatemala, septiembre de 2004.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1. Generalidades	5
3.2. Definiciones	5
3.2.1 Etnobotánica	5
3.2.2 El campo de la Fitoquímica y Farmacología	5
3.3 Importancia de los estudios Fitoquímicos y Farmacológicos	6
3.4 Estudios realizados	6
4. JUSTIFICACIÓN	8
5. OBJETIVOS	9
6. HIPÓTESIS	10
7. MATERIALES Y MÉTODOS	11
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
9. CONCLUSIONES	44
10. RECOMENDACIONES	46
11. REFERENCIAS	47
12. ANEXOS	52

1. RESUMEN

Las plantas medicinales son un legado que nos ha dado la naturaleza en Guatemala y su utilización como medicina alternativa tiene sus orígenes desde nuestros ancestros, los Mayas. Por tal motivo, en el departamento de Farmacología y Fisiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se han estudiado numerosas plantas medicinales que han demostrado una actividad terapéutica y en este caso se estudió una planta medicinal llamada Catopheria chiapensis (Linimento), que al inicio se le estudió su actividad analgésica en Fase I, la cuál dio un excelente resultado a dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso.

Este trabajo de investigación se realizó con la finalidad de estudiar la actividad analgésica de los extractos etanólico, hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento) como un estudio farmacológico de Fase II.
(11.8)

Los extractos fueron preparados por medio de la metodología del fraccionamiento bioguiado. La actividad analgésica de dichos extractos se evaluó por medio de la prueba del analgesímetro, en ratas Wistar de un peso aproximado de 170 gramos.

Los resultados obtenidos y las pruebas estadísticas determinaron que el extracto de acetato de etilo de Catopheria chiapensis (Linimento), posee mejor actividad analgésica significativa a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de peso, respecto a los extractos hexánico y acuoso. El extracto etanólico presentó actividad analgésica significativa a dosis de 100 mg/kg de peso. El Extracto clorofórmico no posee actividad analgésica significativa.

La dosis efectiva media (DE50) del extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), no se pudo determinar, debido a que la actividad analgésica demostrada por las dosis utilizadas fue siempre significativa.

Por la respuesta analgésica obtenida para el extracto de acetato de etilo, se llevó a cabo la caracterización fitoquímica preliminar, al cual se le realizó un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro y técnicas de cromatografía en capa fina (CCF) que

evidenciaron la existencia de alcaloides, antraquinonas, flavonoides, antocianinas, cardenólidos, bufadienólicos, principios activos amargos y aceites esenciales.

Asimismo al extracto de acetato de etilo se le hizo el estudio de toxicidad aguda, (DL50) dando como resultado no ser tóxico a dosis mayor o igual a 600 mg/kg de peso en ratones albinos de un peso aproximado a 20-25 g.

De tal manera que se puede concluir en el presente trabajo que el extracto de acetato de etilo presentó una mejor actividad analgésica y que puede ser un producto prometedor para sus siguientes estudios de fraccionamiento.

2. INTRODUCCIÓN

En Guatemala, las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos prehispánicos, pasando estos conocimientos etnobotánicos de generación en generación hasta nuestros días. Actualmente, en Guatemala se utiliza la medicina tradicional en comunidades de las áreas rurales donde sus pobladores aprovechan las bondades de las plantas medicinales, ya que en muchos casos es el único recurso de atención a la salud disponible para la mayoría de la población. De las plantas identificadas como flora útil el 36% aproximadamente, es utilizada con un fin medicinal. (11.20)

Por tal motivo, es importante el estudio de las plantas medicinales, para determinar con certeza las atribuciones concedidas por siglos, conservando y reforzando así la cultura de la medicina tradicional.

Muchas de estas plantas medicinales ya han sido estudiadas en infusión, confirmando o negando así la atribución concedida por la población.

Una de estas plantas es Catopheria chiapensis (Linimento), a la cual se le atribuyen propiedades analgésicas que demostró en estudio de fase I, actividad analgésica por lo que fue necesario continuar con el estudio farmacológico y fitoquímico de Fase II, y que consiste en la extracción con solventes de distintas polaridades, separando así los compuestos afines según su polaridad, que contienen las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), con el objeto de determinar cual de éstas porciones es responsable de la actividad analgésica.

Ya obtenidos los extractos, se realizó el ensayo farmacológico utilizando ratas albinas hembras, para el test del analgesímetro, distribuyéndolos en grupos similares que reciben agua, como control negativo; un fármaco de referencia, como control positivo y los distintos extractos a dosis 25, 75, 100, 200 y 400 mg/kg de peso, respectivamente. Se realizó un análisis de regresión lineal para establecer la curva dosis-respuesta con $\alpha = 0.05$ y $\beta =$

0.20. El extracto que presentó una mejor actividad analgésica, se sometió a una caracterización fitoquímica y se evaluó la dosis letal media (DL₅₀).

3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades:

El vasto conocimiento popular, basado en la práctica, se transmite de una generación a otra, y en el caso de la medicina tradicional ha resistido la prueba del tiempo. Por lo que hoy en día, la medicina científica y tradicional coexisten en muchas de las regiones de nuestro país. El empirismo y las fuerzas sociales siguen jugando un papel importante en la curación de muchas enfermedades en nuestras comunidades (11.14).

3.2 Definiciones:

3.2.1 Etnobotánica:

La etnobotánica estudia los factores socioculturales de la fitoterapia que es un sistema tradicional de prevenir y curar las enfermedades y las especies botánicas de uso en la medicina popular (11.10).

Por lo que la etnobotánica es un puente entre las ciencias sociales y las ciencias naturales, que nos permiten conocer las relaciones del hombre con las plantas en un contexto cultural (11.14).

3.2.2 El campo de la Fitoquímica y Farmacología:

Estudia la actividad de los extractos vegetales y los principios activos de plantas usadas en la medicina herbaria local y su toxicología. Donde se realiza la extracción, aislamiento y estructura de las sustancias provenientes de las plantas que se les atribuyen propiedades farmacológicas, y que a su vez son identificadas en estudios farmacológicos de Fase I (11.14).

3.3 Importancia de los estudios Fitoquímicos y Farmacológicos:

Los efectos de la pobreza en la población guatemalteca, hacen que la población tenga un escaso acceso a los sistemas de salud y, además, enfrenten un entorno físico muy deteriorado que predisponen a muchas enfermedades que pueden prevenirse y curarse, como lo son las enfermedades gastrointestinales y

respiratorias, que representan una de las principales causas de mortalidad en la población guatemalteca (11.10; 11.14).

Del total de las plantas identificadas como flora útil el 50% se utilizan con u fin medicinal por lo constituyen un factor determinante en la salud de muchas comunidades que utilizan la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades, debido a su efectividad, aceptación cultural y por ser de bajo costo y tener acceso a ellas, comparado con la medicina industrial. Por lo que las investigaciones fito-farmacológicas, son importantes para comprobar las acciones farmacológicas, así como estudiar los mejores métodos de extracción e identificar los principios activos presentes en las plantas que la población le atribuye efectos medicinales. (11.14, 11.20)

3.4 Estudios Realizados:

Se realizó el estudio de fase I, de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), y se describe a continuación:

Sánchez, M. Y Saravia A., en el año de 1,994 se realizó el estudio de la infusión de las hojas, donde concluye que posee una actividad analgésica a dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso, al ser evaluadas en ratones machos albinos por medio de la prueba de Koster y la prueba del analgesímetro al ser evaluada en ratas hembras albinas. También se concluye que la infusión de las hojas no presentó toxicidad aguda evidente (11.8).

4. JUSTIFICACIÓN

Las hojas de Catopheria chiapensis en forma de emplasto son utilizadas popularmente por su actividad analgésica. Trabajos anteriores de investigación realizados en el Departamento de Farmacología y Fisiología de la Escuela de Química Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, han demostrado científicamente una actividad analgésica de las hojas de Catopheria chiapensis en infusión ^(11.8). Por lo anteriormente expuesto se hace indispensable realizar extracciones de la planta a diferentes polaridades para extraer los fitocomponentes, y así determinar qué porción es la responsable de la actividad analgésica en ratas albinas.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Contribuir con los estudios farmacológicos de la actividad analgésica de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).

5.2 Específicos

- 5.2.1 Identificar el extracto que presenta mejor actividad analgésica de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), utilizando el análisis farmacológico.
- 5.2.2 Determinar la Dosis Efectiva Media (DE_{50}) de los extractos crudos de hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).
- 5.2.3 Determinar la Dosis Letal Media (DL_{50}) de el o los extractos crudos de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), que presenten mejor respuesta analgésica.
- 5.2.4 Desarrollar el tamizaje fitoquímico del extracto que presente la mejor respuesta analgésica de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).

6. HIPÓTESIS

Al menos uno de los extractos obtenidos a partir de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), poseen actividad analgésica significativa, demostrable en un modelo animal.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de Trabajo:

Las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).

7.2 Medios:

7.2.1 Recursos Humanos:

7.2.1.1 Br. Nancy Judith Vielman Cuyún, Autor.

7.2.1.2 Dra. Amarilis Saravia, Asesora.

7.2.2 Recursos Materiales:

7.2.2.1 Instalaciones:

- ♣ Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- ♣ Bioterio de La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia., USAC.
- ♣ Centro de documentación Biblioteca CEDOBF. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- ♣ Biblioteca de la Facultad de Agronomía, USAC..
- ♣ Laboratorio -LIPRONAT-

7.2.2.2 Material y equipo de laboratorio.:

- ♣ Analgesímetro Cat. No. 7,200 Ugo. Basile.
- ♣ Rotavapor
- ♣ Cristalería y material de laboratorio en general
- ♣ Cronómetro
- ♣ Percolador
- ♣ Jaulas
- ♣ Jeringas y sondas orogástrica
- ♣ Balanza y estufa

7.2.2.3 Productos químicos y farmacéuticos:

- Caolín USP al 10%
- Diclofenaco en ampollas de 75 mg/mL

7.2.2.4 Animales de experimentación:

- Ratas albinas Hembras (sujetos de experimentación) de 150-175 g de peso.
- Ratones albinos machos (sujetos de experimentación) de 20-30 g de peso.

7.3 Procedimiento:

7.3.1 Revisión Bibliográfica.

7.3.2 Obtención y Recolección de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento)

Las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), se colectaron en Carchá, Alta Verapaz.

Las muestras fueron identificadas por un biólogo especializado de la Escuela de Biología.

7.3.3 Preparación de la planta

Las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), se limpiaron adecuadamente y se secaron en el horno de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, a una temperatura no mayor de 40°C, por tres días, lo cual evita la pérdida de principios activos existentes.

Las hojas ya secas se redujeron de tamaño y se colocaron en un percolador.

7.3.4 Preparación de los extractos:

7.3.4.1 Obtención del extracto etanólico: En un percolador de 2000mL adaptado, se extrajo el material vegetal seco de hojas con 1500mL de etanol por medio de percolación a temperatura ambiente y durante varios días se repitió este procedimiento. Se procedió a filtrar el extracto obtenido y se reconcentró en rotavapor a temperatura controlada menor de 40°C +/- 5°C; y a presión reducida. Finalmente se llevó a sequedad en una desecadora con sílica gel (11.1; 11.2).

7.3.4.2 Obtención del extracto hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso: se disolvió lo obtenido del extracto etanólico en etanol al 80%, al cual se le realizó una partición

líquido-líquido con disolventes de distinta polaridad: hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua. Los disolventes se eliminaron por concentración con rotavapor. El extracto acuoso se obtuvo liofilizando el residuo de agua. (11.1; 11.2).

7.3.5 Ensayo Farmacológico

7.3.5.1 Prueba del analgesímetro

Esta prueba se fundamenta en la provocación de inflamación con un agente flogógeno, en la región subplantar de la pata derecha de la rata, lo que provoca la elevación del umbral de reacción al dolor al aplicar al animal un estímulo nociceptivo de intensidad conocida y en condiciones determinadas. La aplicación de dicho estímulo se realizó por medio del analgesímetro^(11.7). De cada una de las extracciones que se prepararon, se obtuvieron dosis correspondientes de 25, 75, 100, 200 y 400 mg/kg de peso, las cuales se administraron por vía oral con una sonda orogástrica^(11.7).

Se trabajaron con 135 ratas albinas hembras de un peso de 150-175 g. Las ratas que no presentaron sensibilidad conveniente fueron eliminadas. Al azar se distribuyeron grupos de 5 ratas cada uno.

Se tomó un grupo con el fármaco de referencia, como control positivo (ampolla de diclofenaco de concentración de 75 mg/2mL, a dosis de 50 mg/Kg de peso), otro como control negativo (solución isotónica de dextrosa al 5%) y los otros a las dosis de 25, 75, 100, 200 y 400 mg/kg de peso, para cada extracto respectivamente.

A los 30 minutos de la administración oral de los extractos a estudiar, así como del medicamentos, se inyectó 0.05 mL de una suspensión de kaolin USP, por vía subcutánea en la región subplantar de la pata posterior derecha de cada una de las ratas.

Se cuantificó el peso en gramos soportado por la pata inflamada de la rata al momento justo en que ésta siente dolor, ya que la rata llora o retira la pata; se midió por medio del analgesímetro Ugo Basile al término de 1,2,4 y 6 horas después de la inyección del kaolin (11.7; 11.8).

7.3.6 Ensayo toxicológico: Método de Spearman y Karber

Se determinó la DL_{50} al extracto que presentó la actividad analgésica significativa comparado con el fármaco de referencia. El ensayo preliminar se trabajó con 4 lotes de 3 ratones albinos, con un peso aproximado de 20 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 y la dosis se aumentó en progresión geométrica, se evaluaron dosis diferentes, siendo estas: 450, 500, 550 y 600 mg/kg de peso, observándose el comportamiento de los ratones y número de animales muertos. Nota: la muerte puede manifestarse a las 1, 2, 4, 6, 24, 48 horas y un máximo de 8 días o bien morir instantáneamente o pocos minutos después de administrar la dosis. A dosis altas, la muerte aparece en algunos minutos, a veces instantáneamente. Los signos precursores de muerte pueden ser temblores, sialorrea, sudores, espasmos respiratorios, convulsiones, etc.

Cálculos: se aplica la fórmula de Karber y Behrenus:

$$DL_{50} = Df - \frac{(a) * (b)}{(n)}$$

Df = Primera dosis que mata todos los animales

a = Suma de muertes de 2 lotes consecutivos/2.

b = Diferencia entre 2 dosis consecutivas.

n = Número de animales por lote.

Los resultados para la dosis letal 50 son dados en miligramos o gramos por kg de peso.

$$DL_{50} = X \text{ mg/kg}$$

$$DL_{50} = Xg/kg \quad (11.2; 11.8).$$

7.3.7 Tamizaje fitoquímico a través de ensayos macro y semimicro:

Se realizó un tamizaje fitoquímico al extracto que presentó mejor actividad analgésica, de las hojas de Catopheria chiapensis, (Linimento); para ello se utilizaron ensayos macro y semimicro en los que se evaluó la formación de precipitados y complejos coloreados. Se utilizaron técnicas cromatográficas en capa fina (CCF) convencionales para la caracterización fitoquímica:(11.1; 11.4; 11.11; 11.13)

7.3.7.1 Investigación de alcaloides:

▶ Ensayo macro y semimicro:

Agregar 2 gotas de hidróxido de amonio al 10% (p/v) a 0.01 del extracto, luego añadir 25 mL de metanol a 60°C. Filtrar con papel Whatman No.1 y acidificar el filtrado con ácido clorhídrico 2 N. La solución resultante dividirla en 4 tubos y evaluar de la siguiente manera:

- Tubo 1: Agregar 5 gotas del reactivo de Mayer's.
- Tubo 2: Agregar 5 gotas del reactivo de Dragendorff.
- Tubo 3: Agregar 5 gotas del reactivo de Wagner.
- Tubo 4: Testigo.

Estándares: atropina y papaverina al 1% en metanol.

Resultados: Observar durante 2 horas la existencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos (11.18).

▶ Cromatografía en capa fina:

Agregar 1 mL de hidróxido de amonio al 10% (p/v) a 0.01 g del extracto disuelto en 5 mL de metanol. Aplicar en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándares: atropina y papaverina al 1% en metanol (10 microlitros)

Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10).

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: la presencia de alcaloides muestra manchas de fluorescencia .

(Ejemplo: estricnina, brucina, purinas)

UV-365 nm: algunos alcaloides presentan una fluorescencia azul o amarillo.

b) Reactivo de Dragendorff:

Aparecen zonas marrón o naranja (vis), inmediatamente al explayar el reactivo. Los colores no son estables (11.17).

7.3.7.2 Investigación de flavonoides y antocianinas:

▸ Ensayo macro y semimicro:

Se disuelve 0.01 g del extracto con metanol al 80%, filtra y concentra. Se tritura el residuo con 15 mL de éter de petróleo hasta que la extracción sea incolora.

Disuelve el residuo en 30 mL de metanol al 80%, filtra y se divide en 5 tubos:

- Tubo 1: Adicionar ácido clorhídrico al 2% en n-propanol, dejar en reposo 15-30 minutos.
- Tubo 2: Agregar 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10% (p/v).
- Tubo 3: Agregar 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado y calentar en baño de maría por 5 minutos (prueba para leucoantocianinas)
- Tubo 4: Agregar magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.
- Tubo 5: Testigo.

Resultados: Observar cambio de color:

- Tubo 1: Rojo – violeta
- Tubo 2: Azul-verde, catequinas.
- Tubo 3: Rojo-violeta
- Tubo 4: Anaranjado-rojo, flavonas; carmesí-magenta , flavonoles; verde-azul, heterósidos, agliconas.

- Tubo 5: Testigo (11.18).

➤ Cromatografía en capa fina (flavonoides):

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándar: Flavonoides al 0.05% en metanol (10 microlitros).

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

Detección:

- a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: Todos los flavonoides provocan una fluorescencia que son vistas zonas azul oscuras en el fondo amarillo de la cromatoplaca.

UV-365 nm: Depende del tipo de estructura de los flavonoides, fluorescen amarillo, azul o verde.

- b) Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG, 10:8).

Solución 1: solución metanólica al 1% de difenilboriloxietilamina (NP)

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

UV-365 nm: Colores intensos fluorescentes, producidos inmediatamente después de aplicar el reactivo.

El comportamiento de la fluorescencia depende de la estructura de los flavonoides.

Flavonoles:

Glicósidos de quercetina y myricetina : naranja.

Glicósidos de kaempferol e isorhamnetina: amarillo-verde.

Flavones:

Glicósidos de luteolina: naranja.

Glicósidos de apigenina: amarillo-verde (11.11; 11.17).

➤ Cromatografía en capa fina (antocianinas):

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar en una placa de silica gel 60F₂₅₄.

Estándar: Azul de metileno 5mg/10mL en metanol

Rojo de sudán/amarillo naftol: 5mg/5mL en metanol, y 5mg/5mL en cloroformo. Las dos soluciones se mezclan, y L son usados para la cromatografía.

Fase móvil: n-butanol-ácido acético glacial-agua, (8:2:4).

Detección:

c) Sin tratamiento químico:

Visible: Zonas rojas y azul violeta.

d) Reactivo de Anisaldehído-ácido sulfúrico:

Visible: Picrocina, presenta zonas rojo-violeta, crocina presenta zonas azul-violeta.

7.3.7.3 Investigación de antraquinonas:

♣ Prueba de Borntrager:

Disolver 0.01 g del extracto con 30 mL de agua destilada y filtrar. Extraer con 10 mL de benceno. A la fase bencénica añadir 5 mL de solución de test de amonio y agitar.

Resultados: Observar cambios de color en la fase alcalina (rojo, rosado: positivo). (11.18)

♣ Cromatografía en capa fina:

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar en una placa de silica gel 60F₂₅₄.

Estándar: Antrona al 1% en metanol.

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

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: Todos los derivados de antraquinonas fluorescen.

UV-365 nm: Todos los derivados de antraquinonas fluorescen amarillo o rojo-marrón.

b) Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10%:

Visible: Zonas rojas, antraquinonas; zonas amarillas: antronas y antralonas.

UV-365 nm: Fluorescencia roja, antraquinonas; fluorescencia amarilla, antronas y antralonas. (11.17)

7.3.7.4 Investigación de cumarinas:

♣ Ensayo macro y semimicro:

Medir 5 mL del extracto disuelto en metanol. Agregar 1 mL de agua destilada hirviendo. Con un capilar aplicar 2 manchas en papel filtro. A una mancha agregar 1 gota de hidróxido de potasio 0.5N.

Resultados: Observar bajo luz UV-365 nm, la presencia de fluorescencia azul o verde, da positiva la prueba. (11.18)

♣ Cromatografía en capa fina:

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándares: ácido p-coumarínico, cumarina al 1% en metanol.

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

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: Todas las cumarinas presentan una fluorescencia marcada.

UV-365 nm: Todas las cumarinas simples muestran un azul intenso o azul-verde fluorescente. Furanocumarinas a veces muestran fluorescencia amarilla, marrón o azul.

b) Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10%:

UV-365 nm: Zonas fluorescentes azul o verde, que son intensas. (11.11; 11.17)

7.3.7.5 Investigación de cardenólidos y bufadienólicos:

♣ Presencia de lactonas insaturadas:

Disolver 0.01 g de extracto en etanol al 80% y filtrar. Colocar tres manchas del extracto (0.1, 0.2, 0.3 mL) sobre un papel filtro. Secar y agregar unas gotas del reactivo de Kedde. Secar el papel filtro.

Estándar: *Digitalis purpurea* en metanol al 80%.

Resultados: Observar cambio de color, mancha o anillo púrpura da positiva la prueba. (11.18)

▲ **Cromatografía en capa fina:**

Disolver con 1 mL de diclorometano/etanol (1:1), 0.01 g del extracto y aplicar 30-50 microlitos en la cromatoplaque de silica gel 60F₂₅₄.

Estándar: Digoxina 5 mg/2mL de metanol (20 microlitros).

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

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-365 nm: Los cardenólidos fluorescen sólo en esta región , pero los bufadienólidos producen una fluorescencia característica. Los glicósidos cardenólidos no fluorescen en ésta región.

b) Antimonio III:

La cromatoplaque es explayada con 10 mL del reactivo y calentada a 100°C por alrededor de 6 minutos, se puede observar inmediatamente en la región UV-365 nm. Los cambios son observados por una fluorescencia, si la placa explayada se deja un largo tiempo. En luz visible, las zonas aparecen principalmente violeta o marrón. (11.11; 11.17)

Tabla 10.1

Glicósidos Cardiacos	Fluorescencia en UV-365 nm (Después de aplicar Antimonio III y 100°C)
----------------------	---

Derivados de g-strophanthidina:

K-stropahntosida, k-strophantidina- Cymarina, helveticosina, erysimosina G-strophanthina, convallatoxina	Naranja,	} marrón pálido o amarillo-verde
--	----------	-------------------------------------

Glicósidos digitálicos:

Digitoxina, acetildigitoxina Glicósido A purpurea, lanatosina A Gitoxina, digoxina Glicósido B purpurea, lanatoside B/C	}	Azul oscuro o marrón oscuro
		Azul
		Azul
		Azul

Glicósidos oleander:Bufadienólidos:

Proscillaridina, escillarena A, Glucoscillarena Scilliroside, glucoscilliroside Hellebrina, helleborogenona	}	Amarillo-marrón
		Verde pálido
		Amarillo

(11.17)

7.3.7.6 Investigación de saponinas:

▶ Prueba de espuma:

- Tubo 1: 0.01 g de extracto pulverizado y seco.
- Tubo 2: 2 mL de control de saponinas (0.5%)
- Tubo 3: 2 mL de agua.

A cada tubo se le adiciona 10 mL de agua destilada. Calentar en baño de maría (60°C) durante 30 minutos. Enfriar, tapar los tubos, agitar vigorosamente 30 a 40 segundo. Dejar reposar los tubos durante 30 minutos.

Resultados: Observar la formación de capa de espuma. Si una capa de espuma de 3 cm persiste en la superficie líquida después de 30 minutos se presume la presencia de saponinas. (11.11, 11.18)

♣ Cromatografía en capa fina:

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar de 25-40 microlitros, en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándar: Saponinas al 0.1% en metanol (10 microlitros).

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

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

Con la excepción del ácido glicirretina, las saponinas no son detectadas por exposición en UV-254 nm o UV-365 nm.

b) Vainillina-ácido sulfúrico:

Visible: Saponinas se muestran principalmente con zonas azules, azul-violeta y a veces amarillentas (11.17).

7.3.7.7 Investigación de Principios Amargos:

♣ Cromatografía en capa fina:

Se disuelve 0.01 g de extracto con 10 mL de metanol. Aplicar de 25-40 microlitros, en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándar: artemisa al 1% en metanol, (20 microlitros).

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua, (77:15:8)

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: Sustancias con doble enlace conjugado muestran fluorescencia.

UV-365 nm: Principalmente fluorescencia inespecífica, con la excepción de compuestos flavonoides.

b) Vainillina-ácido sulfúrico:

Visualización después e calentar 10 minutos a 100°C:

Neohesperidina, narangina, harpagoside	rojo-violeta
Gentiopicroside, swertiamarina	marrón-rojo
Conduranginas	azul-verde
Foliamentina, mentiafolina, quassin	azul
Marrubbina, absinthina, chinchín	azul.(11.11; 11.17)

7.3.7.8 Investigación de taninos:

▸ Ensayos macro y semimicro:

Añadir a 25 mL de agua caliente a 0.01 g del extracto y agitar con varilla y dejar enfriar. Agregar 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10% y filtrar. Adicionar 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo:

- Tubo 1: Testigo.
- Tubo 2: Agregar 4 o 5 gotas de solución de gelatina al 1% (p/v).
- Tubo 3: Agregar 4 o 5 gotas de gelatina-sal (1% de gelatina y cloruro de sodio al 10%)
- Tubo 4: Agregar 3 o 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10% (p/v).

Resultados: Observar la formación de precipitados y/o cambio de coloración.

- Tubo 1: Testigo.
- Tubo 2: Precipitado.
- Tubo 3: Precipitado.
- Tubo 4: gris-negro, catecol; negro-azul, pirogalol.

Nota: Producción de color en cloruro férrico, indica que o tiene taninos la planta, sino que tiene otros compuestos fenólicos característicos de la planta.

(11.18)

7.3.7.9 Investigación de glicósidos cianogénicos:

▸ Prueba de Guignard:

Colocar 0.01 gramos de extracto en un erlenmeyer de 125 mL y humedecer con agua, adicionar 1 mL de cloroformo. Aparte, introducir una tira de papel

Whatman No. 1 en picrato de sodio (recién preparado) y posteriormente secar: la tira de papel húmedo insertarla en el erlenmeyer que contiene el extracto vegetal evitando que toque las paredes y dejar a una distancia de 1 cm de la muestra. Doblar el papel y tapar el erlenmeyer con un corcho. Calentar en baño de maría a 37°C durante 3 horas o más.

Resultados: Observar cualquier cambio de color en el papel amarillo-rojo o rojo-café. (11.18)

7.3.7.10 Investigación de aceites volátiles:

▲ Cromatografía en capa fina:

Extraer 0.01 g de extracto con 10 mL de diclorometano, agitando esporádicamente durante 15 minutos. Filtrar la suspensión y evaporar el filtrado claro hasta sequedad, en baño de maría. Disolver el residuo en 1 mL de tolueno. Aplicar de 25-40 microlitros, en una placa de sílica gel 60F₂₅₄.

Estándares: Linalool, eugenol en tolueno.

Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo, (93:7).

Detección:

a) Sin tratamiento químico:

UV-254 nm: Todos los compuestos que contienen por lo menos dos dobles enlaces conjugados fluorescen. Los derivados del fenilpropano poseen esta propiedad, ejemplo: anetol, safrol, apiol, eugenol. Otros compuestos que fluorescen son el cinamaldehído, anisaldehído, timol y piperitona.

UV-365 nm: El metil-antranilato muestra intensa fluorescencia azul.

b) Vainillina-ácido sulfúrico:

Calentar la placa durante 5-10 minutos a 110°C, evaluar la placa en visible. El reactivo detecta los componentes de los aceites esenciales (terpenoides, derivados de fenilpropano, fenoles, etc).

Visible: Las coloraciones observadas varían entre azul intenso, verde, rojo y café. (11.4, 11.11, 11.17)

7.4 Diseño experimental:

Se utilizó un diseño totalmente al azar, con 5 dosis para cada extracto: 25, 75, 100, 200 y 400 mg/kg de peso.

7.4.1 Estudio cuantitativo dosis-respuesta:

Tratamientos:

- Control negativo (grupo control con agua o solución isotónica de dextrosa al 5%)
- Control positivo (grupo con fármaco de referencia)
- Grupo del extracto etanólico a dosis n
- Grupo del extracto hexánico a dosis n
- Grupo del extracto clorofórmico a dosis n
- Grupo del extracto acetato de etilo a dosis n
- Grupo del extracto acuoso a dosis n

Se realizaron 5 repeticiones asumiendo $\alpha = 0.05$ y $\beta = 0.20$ y un límite de error igual a dos desviaciones estándar. Cada uno de los test se midió con lotes de ratas diferentes.

7.4.2 Análisis estadístico:

Para el test del analgesímetro, se midió el área bajo la curva del peso soportado vrs. el tiempo, también, se realizó un análisis de varianza de una vía y comparaciones pareadas con el control negativo, es decir un análisis de Dunnett. (11.7) Además, se realizó un análisis de regresión para establecer la curva dosis-respuesta y con base en ésta se calculó la DE_{50} con un IC del 95%.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las tablas y gráficas obtenidas se presentan a continuación, junto a su interpretación y discusión respectiva.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA

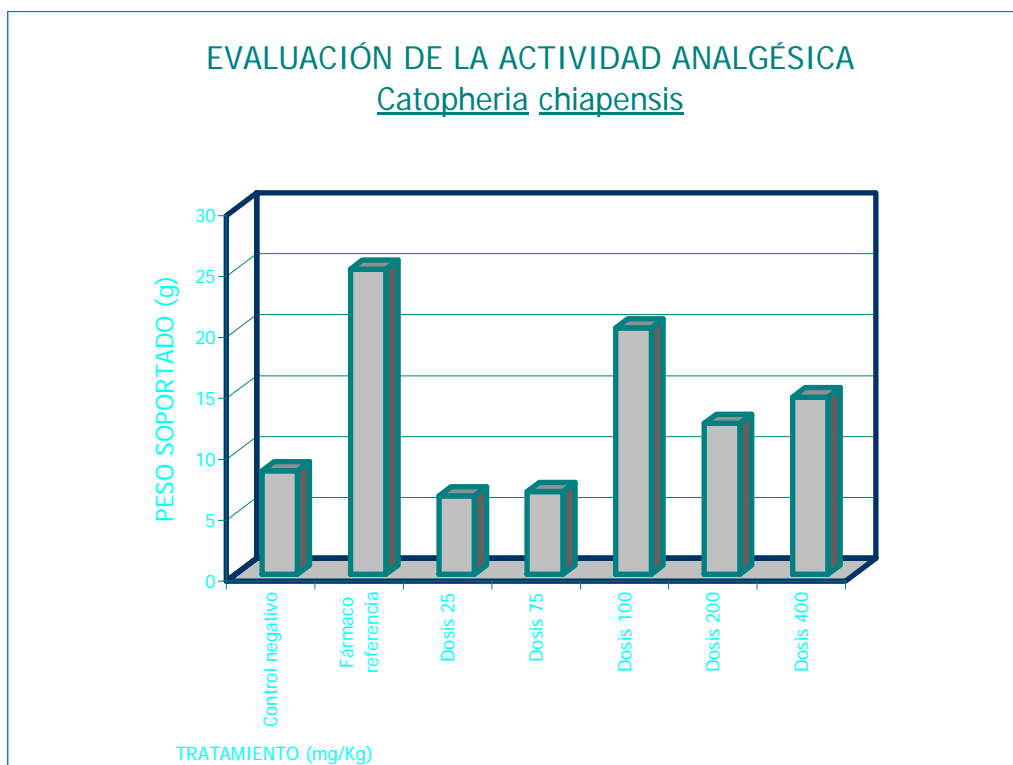
HOJAS DE Catopheria chiapensis (Linimento)

Prueba del analgesímetro

Peso soportado en 6 horas

GRÁFICA#1

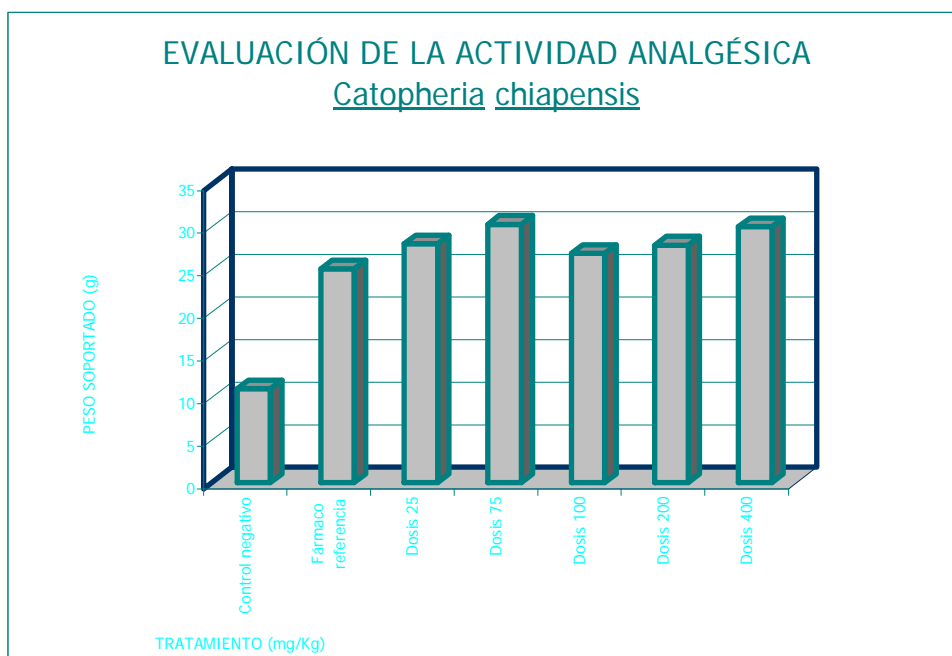
EXTRACTO ETANÓLICO



Los resultados obtenidos para extracto etanólico de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), demostraron que posee actividad analgésica significativa estadísticamente a dosis de 100 mg/Kg de peso, de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), durante el transcurso de las 6 horas de prueba.

El análisis de varianza de áreas bajo la curva y la prueba de Dunnet efectuadas, demuestran que al comparar los tratamientos contra el control negativo, se obtuvo que hubo diferencia significativa (actividad analgésica) del fármaco de referencia ($p < 0.05$) y la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0.05$); mientras que para las dosis de 25, 75, 200 y 400 mg/kg, no hubo una diferencia significativa estadísticamente con el control negativo. Ver Anexo 12.1.1

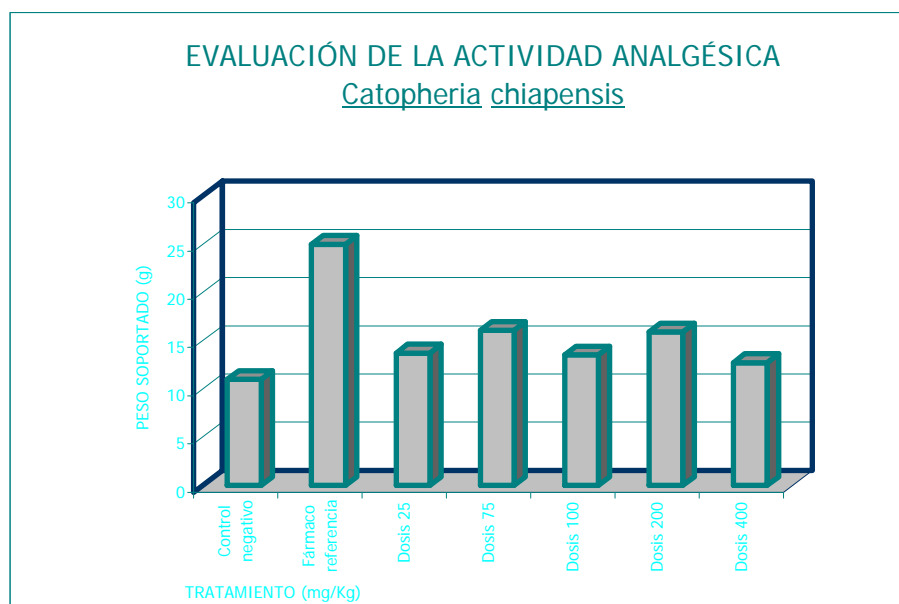
GRÁFICA # 2
EXTRACTO HEXÁNICO



Los resultados obtenidos para el extracto hexánico de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), demostraron que las dosis de 25, 75, 100, 200 y 400 mg/Kg de peso presentaron una actividad analgésica significativa estadísticamente.

Tanto el fármaco de referencia como las dosis utilizadas, presentaron una diferencia significativa al compararlos con el control negativo de $p < 0.05$. Ver Anexo 12.1..2

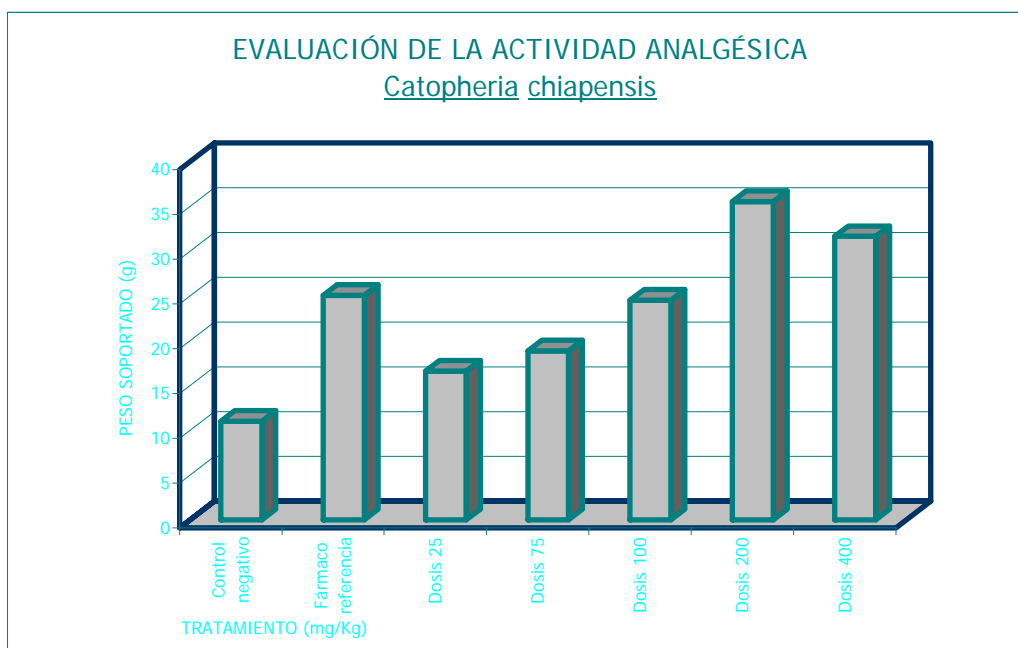
GRÁFICA # 3 EXTRACTO CLOROFÓRMICO



Para el extracto clorofórmico de las hojas de *Catopheria chiapensis* (Linimento), los resultados obtenidos demostraron que ninguna de las dosis utilizadas presentó una actividad analgésica significativa estadísticamente.

El único tratamiento que presentó una diferencia significativa al compararlo contra el control negativo fue el fármaco de referencia ($p < 0.05$). Ver Anexo 12.1..3

GRÁFICA # 4
EXTRACTO ACETATO DE ETILO



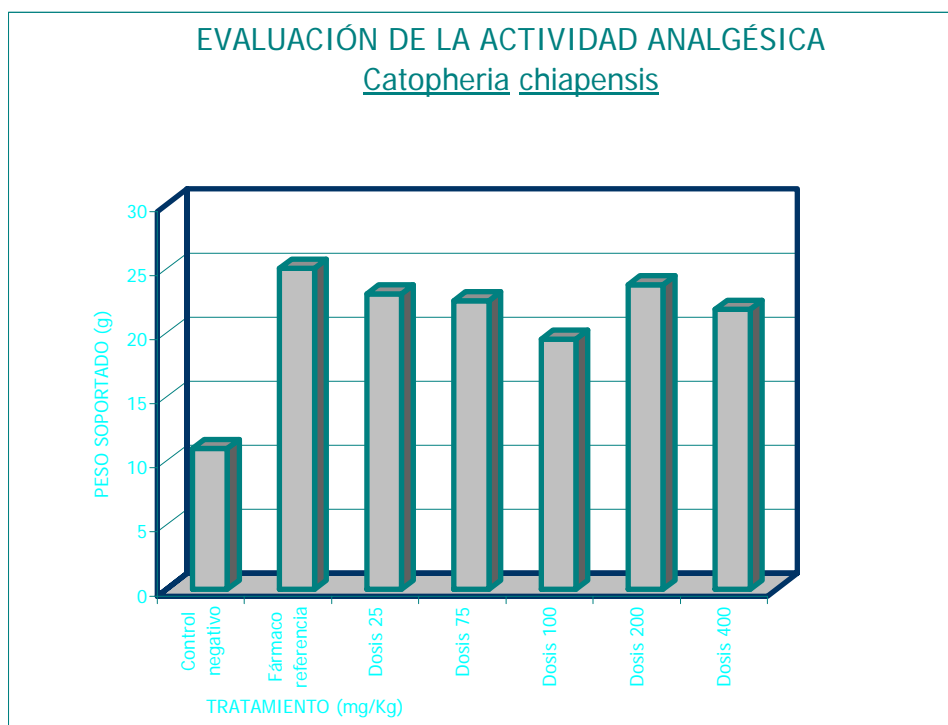
El extracto de acetato de etilo de las hojas de *Catopheria chiapensis* (Linimento), demuestra una actividad analgésica significativa estadísticamente a dosis de 100, 200 y 400 mg/Kg de peso.

Al comparar los tratamientos contra el control negativo, se obtuvo que hubo diferencia significativa con el fármaco de referencia y las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de $p < 0.05$.

Como se observa en la Gráfica # 4, la actividad analgésica comienza a ascender con la dosis de 25, 75 y 100 mg/Kg, en la dosis de 200 mg/Kg, se obtiene la mayor respuesta

y en la dosis de 400 mg/Kg comienza a descender la actividad, pero nunca deja de presentar una actividad analgésica significativa, por lo que no se puede determinar la DE₅₀. Ver Anexo 12.1.4

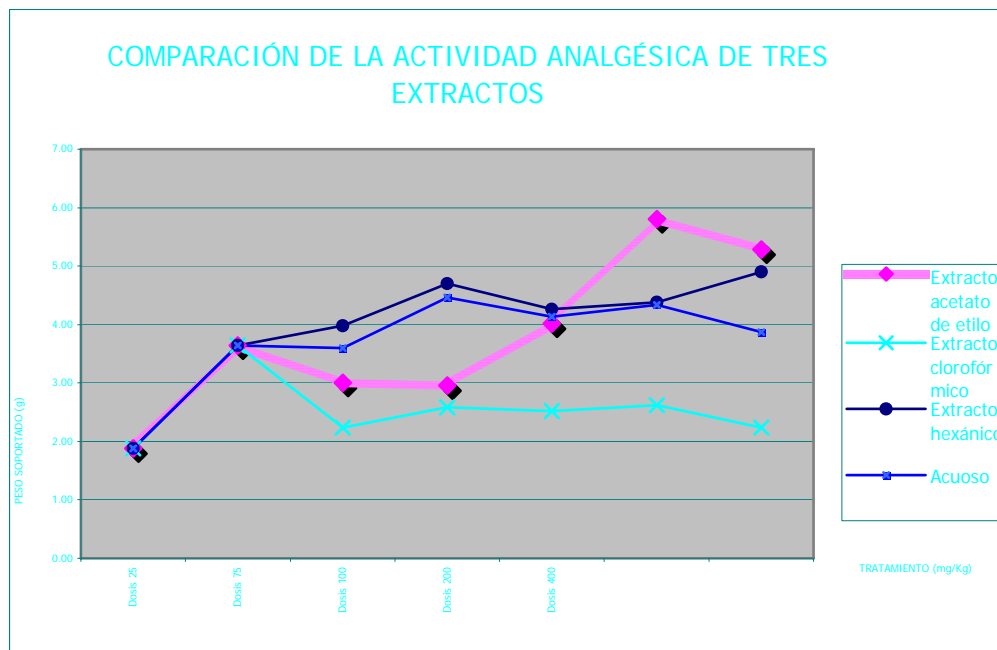
GRÁFICA # 5
EXTRACTO ACUOSO



Los resultados obtenidos para el extracto acuoso de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), demuestran que las dosis de 25, 75, 100, 200 y 400 mg/Kg de peso, presentan una actividad analgésica significativa estadísticamente.

Al comparar el fármaco de referencia y todas las dosis del extracto con el control negativo, presentan una diferencia significativa de ($p < 0.05$). Ver Anexo 12.1.5

GRÁFICA # 6
COMPARACIÓN ENTRE LOS EXTRACTOS



Al comparar los extractos hexánico, acetato de etilo y acuoso que presentaron una actividad analgésica significativa estadísticamente, en más de dos dosis utilizadas; se obtiene que el extracto de acetato de etilo presenta una mayor actividad a dosis de 200 y 400 mg/kg de peso con respecto a los otros extractos, a pesar que a dosis de 25 y 75 mg/Kg de peso su actividad es menor que la de los otros extractos.

CARÁCTERIZACIÓN FITOQUÍMICA
EXTRACTO ACETATO DE ETILO
Catopheria chiapensis, (Linimento)

TABLA # 1

ENSAYO MACRO Y SEMIMICRO

Tamizaje macro y semimicro		Resultado Teórico	Resultado Obtenido
Alcaloides	⊗ Reactivo Mayer's		+
	⊗ Reactivo Dragendorff	⊗ Precipitados, turbidez o precipitación de complejos.	++
	⊗ Reactivo Wagner		++
	⊗ Testigo		-
Flavonoides y antocianinas	⊗ HCl 2N/n-propanol		⊗ Rojo – violeta.
	⊗ Cloruro Férrico 10%	⊗ Azul-verde: catequinas.	Negativo
	⊗ HCl []	⊗ Rojo-violeta: leucoantocianinas.	Verde claro
	⊗ Magnesio metálico	⊗ Anaranjado-rojo, flavonas.	Verde claro
		carmesí-magenta: flavonoles.	
		verde-azul: heterósidos, agliconas.	
	⊗ Testigo	⊗ Testigo	

			Negativo
Antraquinonas	⊗ Prueba Borntrager	⊗ Rojo, rosado: fase alcalina.	Positivo
Cumarinas	⊗ KOH 0.5 N/ UV 365 nm	⊗ Fluorescencia: azul o verde.	Negativo
Cardenólidos y bufadienólidos	⊗ Lactonas insaturadas	⊗ Cambio de color: mancha o anillo púrpura.	Negativo
Saponinas	⊗ Test de espuma	⊗ Espuma > 3 cm después de 30 min.	Negativo
Principios amargos	---	----	---
Taninos	⊗ Solución gelatina 1%	⊗ Formación de precipitado y/o cambio de coloración. ⊗ Grisáceo-negro: catecol Negro-azulado: pirogalol. ⊗ Testigo.	Negativo
	⊗ Solución gelatina/sal 1%		Negativo
	⊗ Cloruro Férrico 10%		Positivo
	⊗ Testigo		Negativo
Glicósidos cianogénicos	⊗ Prueba de Guinard	⊗ Amarillo a rojo o rojo café	Negativo
Aceites volátiles	---	---	---

TABLA#2
TÉCNICA CROMATOGRÁFICA EN CAPA FINA

Cromatografía Capa Fina	Resultados
Alcaloides	Positivo
Flavonoides y antocianinas	Positivo
Antraquinonas	Positivo
Cumarinas	Negativo
Cardenólidos y bufadienólidos	Positivo
Saponinas	Negativo
Principios amargos	Positivo
Taninos	-----
Glicósidos cianogénicos	-----
Aceites volátiles	Positivo

Para la caracterización fitoquímica se realizó un tamizaje fitoquímico al extracto de acetato de etilo, el cual presentaba mejor actividad analgésica, al compararlos con los otros extractos. Ver Gráfica # 6.

Se realizó el tamizaje fitoquímico, por medio de los ensayos macro y semi-micro, que presentan evidencia preliminar de la existencia de alcaloides, antraquinonas, y taninos en el extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento). Ver Tabla 1. Los resultados obtenidos para flavonoides, antocianinas, cardenólidos, bufadienólidos, saponinas, glicósidos cianogénicos y taninos (pruebas de solución gelatina y gelatina/sal al 1%), no ofrecen evidencias concluyentes a la presencia o ausencia de estos compuestos.

Los resultados en el tamizaje fitoquímico con técnicas cromatográficas (CCF), para alcaloides demuestran que en la observación de la cromatoplaqueta a una región UV-365 nm, presentan zonas amarillo fluorescente, (ver Anexo 12.2.1), mientras que en los otros análisis

para este compuesto no se observó ninguna semejanza tanto con el estándar como lo esperado para este tipo de compuestos,.

Los resultados para flavonoides demuestran que al observar la cromatoplaaca a las regiones UV-254 y UV-365 nm, el R_f del extracto analizado con el R_f del estándar (Quercetina), es bastante similar y además una fluorescencia amarilla como lo esperado teóricamente. Al aplicar tratamiento químico a la cromatoplaaca, el extracto presenta fluorescencia anaranjada que indica posibles flavonoles o flavonas. Ver Anexo 12.2.2

El análisis de antocianinas sin tratamiento químico en la región visible, el extracto presentó una zona azul como lo esperado teóricamente. Ver Anexo 12.2.3

El extracto de acetato de etilo, presentó un R_f similar al estándar utilizado (antrona), además presenta zonas fluorescentes rojas, como lo indica la teoría para este tipo de compuestos. Al aplicar tratamiento químico y observar la cromatoplaaca en la región visible, se detectó una zona amarillo fluorescente que indica posibles antronas y antralonas. Anexo 12.2.4

Para cumarinas, el extracto de acetato de etilo al ser observado bajo las regiones de UV-254 y UV-365 nm, no presentó ninguna fluorescencia, pero al aplicarle tratamiento químico, el extracto presentó un R_f similar al R_f del estándar utilizado (cumarina). Ver Anexo 12.2.5

Los resultados para cardenólidos y bufadienólidos, después de aplicar tratamiento químico a la cromatoplaaca se observan zonas amarillas, naranjas y verdes que concuerdan con los resultados teóricos para derivados de g-strophanthidina: y bufadienólidos, también coincide un R_f de zona amarilla-naranja con el R_f del estándar utilizado (digoxina). Ver Anexo 12.2.6

En el análisis de saponinas los resultados fueron negativos, ya que las zonas obtenidas del extracto no concuerdan con los resultados del estándar, ni con los resultados teóricos esperados para este compuesto. Ver Anexo 12.2.7

Para principios amargos los resultados obtenidos en la región UV-254 nm fueron negativos, en la región UV-365 nm el extracto presentó zonas con fluorescencia amarilla,

naranja y roja que indica la presencia de éstos compuestos. Al aplicar tratamiento químico a la cromatoplaca, los resultados obtenidos en la región visible indican la posible presencia de neohesperidina, narangina, arpagoside, gentiopicroside, swertiamarina, conduranginas, foliamentina, mentiafolina, quassin, marrubina, absinthina, chinchín, por las zonas violeta, naranja y azul que concuerdan con los resultados teóricos para éstos compuestos. Ver Anexo 12.2.8

Los resultados obtenidos para el análisis de los aceites volátiles indican la presencia de zonas color marrón, naranja, rojo y corinto, en la región UV-254 y UV-365 nm, al aplicar tratamiento químico a la cromatoplaca, el extracto presenta cuatro R_f similares al estándar utilizado (Linalol). Ver Anexo 12.2.9

Para el ensayo toxicológico se utilizó el extracto de acetato de etilo el cual presentaba mejor actividad analgésica, no se observó ninguna muerte durante los ocho días de estudio y tampoco ningún signo precursor de muerte como temblores, sialorrea, espasmos respiratorios o convulsiones, por lo que se infiere que el extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), es seguro a dosis máxima de 600 mg/Kg de peso.

9. CONCLUSIONES

- 9.1 El extracto etanólico de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), posee actividad analgésica significativa a dosis de 100 mg/Kg.
- 9.2 El extracto hexánico y acuoso de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), poseen actividad analgésica significativa a dosis de 25, 75, 100, 200 y 400 mg/Kg de peso.
- 9.3 El extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), posee mejor actividad analgésica significativa a dosis de 100, 200 y 400 mg/Kg de peso, que los extractos hexánico y acuoso de las hojas de Catopheria chiapensis .
- 9.4 El extracto clorofórmico de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), no posee una actividad analgésica significativa.
- 9.5 La Dosis Efectiva Media (DE₅₀) del extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), no se pudo determinar, debido a que la actividad analgésica demostrada por las dosis utilizadas siempre fue significativa estadísticamente.
- 9.6 Los ensayos macro y semi-micro en la caracterización fitoquímica, presentan evidencia preliminar de la existencia de alcaloides, antraquinonas, y taninos, en el extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).
- 9.7 La caracterización fitoquímica con técnicas cromatográficas (CCF), presenta evidencia preliminar de la existencia de alcaloides, flavonoides, antocianinas,

antraquinonas, cardenólidos, bufadienólicos, principios amargos y aceites esenciales; en el extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).

- 9.8 El extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), no presentó una toxicidad aguda evidente a dosis máxima de 600 mg/Kg..

10. RECOMENDACIONES

- 10.1 Complementar el estudio de la evaluación analgésica Fase III de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), para aislar el principio activo responsable de la actividad analgésica.
- 10.2 Realizar estudios de la actividad antiinflamatoria con el extracto de acetato de etilo de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento).
- 10.3 Realizar estudios de fracciones puras, para determinar cual de los dos métodos de extracción es el más efectivo.
- 10.4 Realizar estudios sobre el aceite esencial de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), ya que es muy rico en este compuesto.

11. REFERENCIAS

- 11.1 BARRIOS, R. BERGER, I., CÁCERES, A. Fraccionamiento bioguiado y tamizaje fitoquímico del extracto etanólico con actividad antibacteriana de *Vaccinium poasanum* Donn. Sm. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001.
- 11.2 CORTEZ, E. REYES, M. Estudio Farmacológico de los extractos hexánico, clorofórmicos, cloroformo-metanol (9:1), metanólico y acuoso de la especie *Lippia alba* (salvia sija) como antiinflamatorio. (Estudio farmacológico fase II) Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1999.74pp
- 11.3 MARTINEZ, J. Enciclopedia de Ciencias Naturales. Editorial Bruguera, S.A. España. 1976. 1536pp.
- 11.4 MEDINILLA, B. Manual de laboratorio de fitoquímica. Guatemala USAC. Manual, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1999. 27pp.
- 11.5 PAHLOW, M. El Gran Libro de las Plantas Medicinales. Salud a través de las fuerzas curativas de la naturaleza. Editorial Everest, S. A. España. 1985. 465pp.
- 11.6 CHAJÓN, R. SARAVIDA, A. Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de Sambucus mexicana Presl. Ex. A.D.C. (Sauco). Fase II. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1996. 76pp.

- 11.7 SAGASTUME, A. SARAVIA, A. Estudio de la actividad analgésica de las infusiones de las semillas de Linum usitatissimum L. (Linaza)., de hojas de Plantago major (Llantén) y de Cecropia peltata (Guaramo), utilizadas popularmente en Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1997. 90pp.
- 11.8 SÁNCHEZ, M. SARAVIA, A. Estudio de la acción analgésica de las infusiones de hoja de Catopheria chiapensis (Linimento), semillas de Moringa oleifera (Paraíso blanco) y hoja de Lippia alba, (Salvia sija) utilizadas popularmente en Guatemala.
- 11.9 FIÓN, M. SARAVIA, A. Recopilación de plantas medicinales, validadas farmacológicamente por estudiantes asesorados en el Departamento de Farmacología y Fisiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2003. 112pp.
- 11.10 CIFUENTES, E. Herbolaria y Tradiciones etnomédicas en un pueblo Nahua. Coordinación de la Investigación científica. México. 1990. 8-12pp.
- 11.11 MEDINILLA, B. Manual de laboratorio de Farmacognosia. Guatemala USAC. Manual, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001. 36pp.
- 11.12 [www. Wiley InterScience, Journal, abstract.com](http://www.WileyInterScience.com)
- 11.13 SANTA CRUZ, L. Manual de Laboratorio de fitoquímica. Guatemala. USAC. Facultas de Ciencias Químicas y Farmacia. 1986. 53pp

- 11.14 Comisión Económica para América Latina y el Caribe. –CEPAL. Centroamérica: La producción de medicamentos fitoterapéuticos y de materias primas agrícolas para la industria farmacéutica.
- 11.15 Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Field Museum of Natural History. Vol. 24, part IX, Nos. 1 y 2. 1970. pp 208, 238-241.
- 11.16 Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desenvolvimiento. Métodos de Evaluación de la Actividad Farmacológica de Plantas Medicinales. Lima, Perú. 2002. pp 66-67.
- 11.17 Wagner, H, S. Bladt EM. Zgainski. Plant Drug análisis: A Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin Heidelberg New York Tokyo. 1984. pp.305.
- 11.18 SANTA CRUZ, L. Manual: Selección Fitoquímica: Guía Práctica para los laboratorios de Química de Productos Naturales y Fitoquímica. Guatemala. USAC. Facultas de Ciencias Químicas y Farmacia.. 92pp.
- 11.19 NAPRALERT. Programa de colaboradores de la investigación de Ciencias Farmacéuticas. Colegio de Farmacia. Universidad de Illinois. Chicago.
- 11.20 La vida silvestre. Uso y Conservación. Estrategia Nacional para la conservación y uso sostenible de la Biodiversidad.. Guatemala. 119 pp.1999.
- 11.21 Dominguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa. México. 281 pp. 1973.
- 11.22 Goris, A.; Liot and A. Goris. Pharmacie Galenique. 10 ed. Masson. Paris. Tomo 1. 218 pp. 1942

- 11.23 Remington. Farmacia. 19^a. Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. Tomo 2. 3020 pp. 1998.
- 11.24 The United States Pharmacopeia The Natural Formulary. 23 Edición. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. Estados Unidos. 2391 pp. 1995.
- 11.25 Trease, G. and W. Evans. Farmacognosia. Editorial Continental S.A. de C.V. México. 910 pp. 1973.
- 11.26 CRUZ, S. BERGER, I. Fraccionamiento Bioguiado y Tamizaje Fitoquímico del Extracto Etanólico del Ocimum micranthum Willd, (Albahaca de monte). Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001. 56pp.
- 11.27 Stahl, E. (ed). Drug Análisis by Chromatography and Microscopy. Ann Arbor Science Publishers. Michigan. 238 pp. 1973.

12. ANEXOS

- 12.1 Tablas de resultados para Analgesia. Prueba del analgesímetro.
- 12.2 Tablas resultados del tamizaje fitoquímico
- 12.3 Aspectos relacionados con la CCF
- 12.4 Fotografías Cromatografía Capa Fina
- 12.5 Descripción botánica
- 12.6 Archivos de NAPRALERT para Catopheria chiapensis (Linimento)

12.1 TABLAS DE RESULTADOS PARA ANALGESIA. PRUEBA DEL ANALGESÍMETRO

12.1.1 Extracto Etanólico

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	1.00	1.00	2.50	1.00	1.50
	1	2.50	3.00	2.00	5.00	2.50	3.00
	2	2.00	1.00	5.00	2.50	5.00	3.10
	4	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00	0.80
	6	0.50	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00
Promedio	Control (-)	1.50	1.30	2.00	2.40	2.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	1.50	0.50	1.00	3.50	2.10
	1	5.00	4.00	1.00	3.00	4.00	3.40
	2	6.00	4.00	3.50	4.00	4.50	4.40
	4	7.00	5.00	6.50	5.00	5.00	5.70
	6	3.00	2.50	1.50	3.00	3.00	2.60
Promedio	Fármaco ref	5.00	3.40	2.60	3.20	4.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	6.00	2.00	2.00	1.00	2.50	2.70
	1	1.50	1.00	1.00	1.00	1.50	1.20
	2	1.00	1.00	1.00	0.50	1.50	1.00
	4	0.50	0.50	1.50	0.50	1.50	0.90
	6	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00	0.60
Promedio	Dosis 25 mg/kg	1.90	1.00	1.20	0.70	1.60	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.50	3.50	4.00	1.50	1.00	2.70
	1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50	1.10
	4	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	0.90
	6	1.50	1.00	1.50	0.50	0.50	1.00
Promedio	Dosis 75 mg/kg	1.50	1.50	1.70	1.00	1.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.50	1.50	1.00	1.00	1.00	1.40
	1	5.00	3.00	3.50	3.00	1.50	3.20
	2	8.00	5.00	4.00	3.00	5.50	5.10
	4	5.00	3.00	3.50	3.00	4.00	3.70
	6	0.50	1.00	1.00	3.00	1.00	1.30
Promedio	Dosis 100 mg/kg	4.20	2.70	2.60	2.60	2.60	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	5.00	1.50	2.00	5.00	3.10
	1	1.50	4.00	1.50	2.00	0.50	1.90
	2	3.50	2.00	1.50	1.00	0.50	1.70
	4	2.00	3.50	2.00	2.00	1.00	2.10
	6	4.50	4.00	1.00	1.00	1.00	2.30
Promedio	Dosis 200 mg/kg	2.70	3.70	1.50	1.60	1.60	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	1.50	2.00	1.00	1.00	1.00	1.30
	1	1.00	4.00	1.50	3.00	1.50	2.20
	2	1.20	1.50	1.50	4.00	1.50	1.94
	4	1.50	5.00	1.00	5.00	5.00	3.50
	6	1.00	1.00	1.00	3.00	3.00	1.80
Promedio	Dosis 400 mg/kg	1.24	2.70	1.20	3.20	2.40	

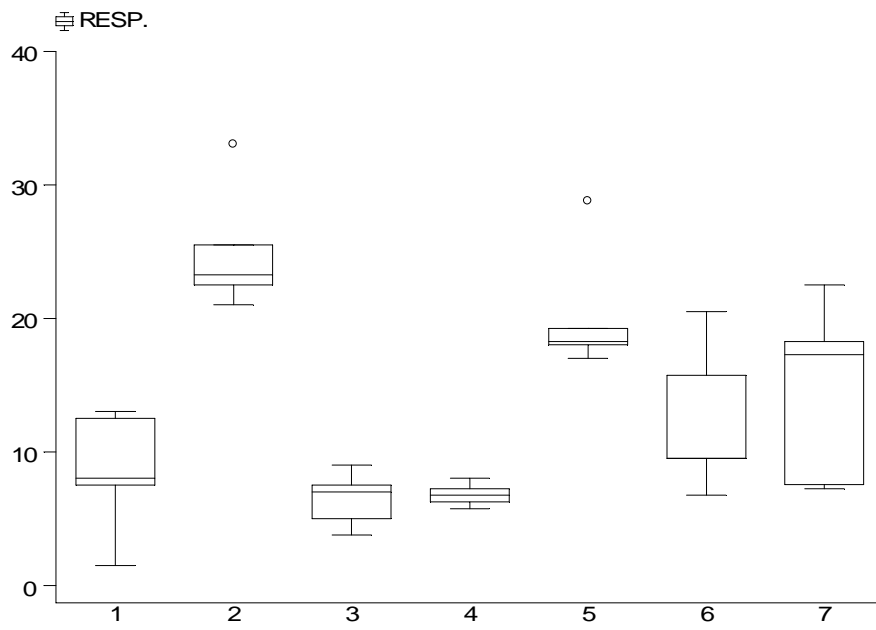
Resumen de Respuestas

Tratamiento	Media	Desv. St.	Frecuencia
Control negativo	8.5	4.6502688	5
Fármaco de Referencia	25.05	4.7315431	5
Dosis 25 mg/kg	6.45	2.0796634	5
Dosis 75 mg/kg	6.8	0.87321246	5
Dosis 100 mg/kg	20.25	4.8185838	5
Dosis 200 mg/kg	12.4	5.6030126	5
Dosis 400 mg/kg	14.56	6.8277375	5
Total	13.43	7.8695354	35

Análisis de Varianza

Fuente	SS	df	MS	F	Prob > F
Entre Grupos	1504.284	6	250.714	11.67	0.0000
Dentro Grupos	601.321997	28	21.4757856		
Total	2105.606	34	61.9295882		

Prueba de Dunnett:



12.1.2 Extracto hexánico

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	1.00	1.00	2.50	1.00	1.50
	1	2.50	3.00	2.00	5.00	2.50	3.00
	2	2.00	1.00	5.00	2.50	5.00	3.10
	4	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00	0.80
	6	0.50	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00
Promedio	Control (-)	1.50	1.30	2.00	2.40	2.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	1.50	0.50	1.00	3.50	2.10
	1	5.00	4.00	1.00	3.00	4.00	3.40
	2	6.00	4.00	3.50	4.00	4.50	4.40
	4	7.00	5.00	6.50	5.00	5.00	5.70
	6	3.00	2.50	1.50	3.00	3.00	2.60
Promedio	Control (+)	5.00	3.40	2.60	3.20	4.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	3.50	2.00	2.00	1.00	2.10
	1	3.00	4.50	5.00	5.50	4.50	4.50
	2	7.00	8.00	7.00	6.00	7.50	7.10
	4	6.50	5.50	5.50	8.50	3.00	5.80
	6	0.00	0.50	0.50	1.00	0.00	0.40
Promedio	Dosis 25 mg/kg	3.70	4.40	4.00	4.60	3.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	2.50	1.00	4.00	4.00	3.10
	1	6.50	6.50	7.00	8.00	7.50	7.10
	2	7.50	7.00	7.50	6.50	8.00	7.30
	4	6.50	5.50	5.00	4.00	2.50	4.70
	6	0.50	0.50	2.50	1.50	1.50	1.30
Promedio	Dosis 75 mg/kg	5.00	4.40	4.60	4.80	4.70	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.50	3.50	3.00	2.50	2.50	3.00
	1	7.00	5.00	8.00	3.00	8.00	6.20
	2	7.00	5.00	9.50	6.00	8.00	7.10
	4	1.00	5.00	8.00	2.00	1.00	3.40
	6	0.50	3.50	2.50	0.00	1.00	1.50
Promedio	Dosis 100 mg/kg	3.80	4.40	6.20	2.70	4.10	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	3.00	4.50	4.50	6.50	4.50
	1	3.50	3.50	5.00	5.00	7.50	4.90
	2	6.50	5.00	8.00	6.50	8.00	6.80
	4	3.00	7.00	4.00	5.00	5.00	4.80
	6	0.50	0.00	0.50	1.00	2.50	0.90
Promedio	Dosis 200 mg/kg	3.50	3.70	4.40	4.40	5.90	

RATA	1	2	3	4	5	Promedio
------	---	---	---	---	---	----------

Tiempo	0	5.00	4.50	4.50	4.00	4.00	4.40
	1	8.50	5.50	5.50	7.00	7.00	6.70
	2	10.00	6.00	8.50	7.00	7.50	7.80
	4	1.00	3.50	5.50	6.00	3.00	3.80
	6	0.50	1.00	2.50	2.50	2.50	1.80
Promedio	Dosis 400 mg/kg	5.00	4.10	5.30	5.30	4.80	

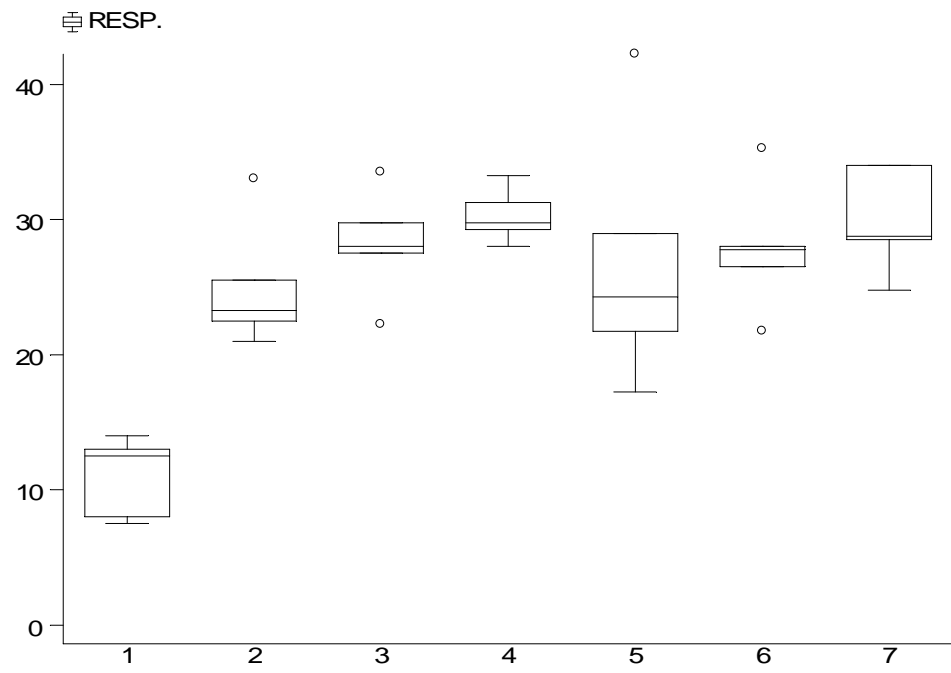
Resumen de Respuestas

Tratamiento	Media	Desv. St.	Frecuencia
Control negativo	11	3.0207615	5
Fármaco de Referencia	25.05	4.7315431	5
Dosis 25 mg/kg	28.02	4.0750767	5
Dosis 75 mg/kg	30.3	2.0186629	5
Dosis 100 mg/kg	26.89	9.5719904	5
Dosis 200 mg/kg	27.85	4.8431653	5
Dosis 400 mg/kg	30	3.984208	5
Total	25.612857	7.8111096	35

Análisis de Varianza

Fuente	SS	df	MS	F	Prob > F
Entre Grupos	131618.571	6	21936.4286	4.42	0.0029
Dentro Grupos	138847.50	28	4958.83929		
Total	270466.071	34	7954.88445		

Prueba de Dunnett:



12.1.3 Extracto Clorofórmico

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	1.00	1.00	2.50	1.00	1.50
	1	2.50	3.00	2.00	5.00	2.50	3.00
	2	2.00	1.00	5.00	2.50	5.00	3.10
	4	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00	0.80
	6	0.50	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00
Promedio	Control (-)	1.50	1.30	2.00	2.40	2.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	1.50	0.50	1.00	3.50	2.10
	1	5.00	4.00	1.00	3.00	4.00	3.40
	2	6.00	4.00	3.50	4.00	4.50	4.40
	4	7.00	5.00	6.50	5.00	5.00	5.70
	6	3.00	2.50	1.50	3.00	3.00	2.60
Promedio	Control (+)	5.00	3.40	2.60	3.20	4.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.50	2.50	3.50	2.00	4.00	3.10
	1	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50	1.20
	2	3.50	5.00	7.00	4.50	3.00	4.60
	4	3.50	2.50	1.00	1.00	1.00	1.80
	6	0.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50
Promedio	Dosis 25 mg/kg	2.30	2.30	2.60	1.90	2.10	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	2.00	3.50	3.50	5.00	3.20
	1	1.50	2.00	1.00	4.00	2.00	2.10
	2	2.50	7.00	3.50	4.50	2.50	4.00
	4	1.50	4.00	3.50	1.50	3.50	2.80
	6	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.80
Promedio	Dosis 75 mg/kg	1.70	3.10	2.40	2.90	2.80	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	4.50	2.50	3.50	1.50	3.20
	1	7.00	3.00	6.00	4.00	2.50	4.50
	2	3.00	4.50	4.50	4.00	4.50	4.10
	4	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	6	0.50	0.00	0.50	0.00	0.50	0.30
Promedio	Dosis 100 mg/kg	3.00	2.50	2.80	2.40	1.90	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.50	3.50	1.50	3.50	7.50	4.10
	1	1.50	3.00	3.50	5.50	7.50	4.20
	2	2.50	3.00	5.00	4.00	4.50	3.80
	4	0.50	2.00	1.00	1.00	4.00	1.70
	6	0.50	1.00	1.00	0.50	0.00	0.60
Promedio	Dosis 200 mg/kg	1.90	2.50	2.40	2.90	4.70	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.50	3.50	3.50	3.00	5.00	3.50
	1	1.50	1.50	2.00	2.00	4.00	2.20
	2	4.50	3.00	2.50	2.00	3.00	3.00
	4	1.50	2.50	2.50	1.50	1.00	1.80
	6	0.50	0.50	0.50	1.50	0.50	0.70
Promedio	Dosis 400 mg/kg	2.10	2.20	2.20	2.00	2.70	

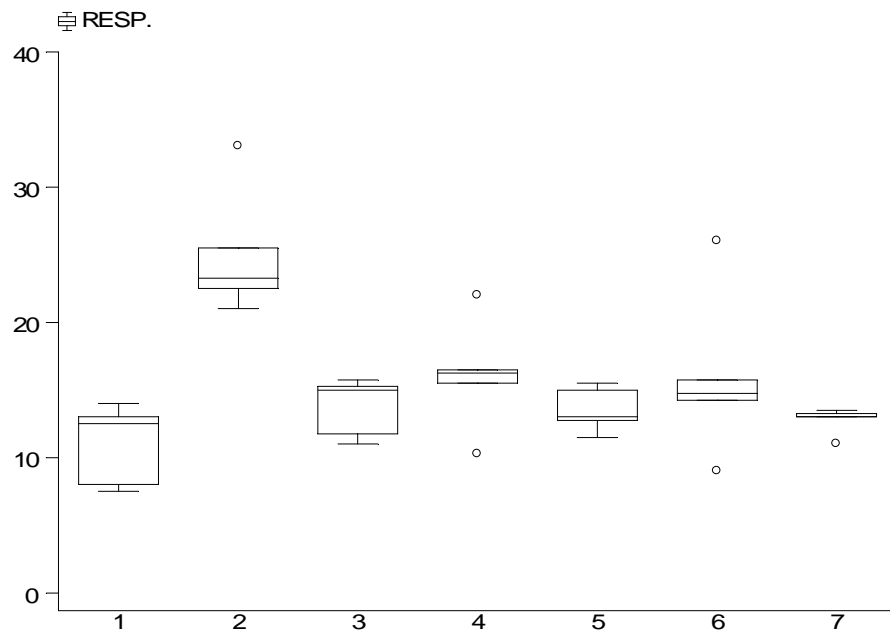
Resumen de Respuestas

Tratamiento	Media	Desv. St.	Frecuencia
Control negativo	11	3.0207615	5
Fármaco de Referencia	25.05	4.7315431	5
Dosis 25 mg/kg	13.75	2.2008521	5
Dosis 75 mg/kg	16.1	4.1705815	5
Dosis 100 mg/kg	13.55	1.662077	5
Dosis 200 mg/kg	15.95	6.1982861	5
Dosis 400 mg/kg	12.75	1	5
Total	15.45	5.4660718	35

Análisis de Varianza

Fuente	SS	df	MS	F	Prob > F
Entre Grupos	632.125	6	105.354168	7.69	0.0001
Dentro Grupos	383.725	28	13.7044643		
Total	1015.85	34	29.8779412		

Prueba de Dunnett:



12.1.4 Extracto de Acetato De Etilo

12.1.5

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	1.00	1.00	2.50	1.00	1.50
	1	2.50	3.00	2.00	5.00	2.50	3.00
	2	2.00	1.00	5.00	2.50	5.00	3.10
	4	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00	0.80
	6	0.50	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00
Promedio	Control (-)	1.50	1.30	2.00	2.40	2.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	1.50	0.50	1.00	3.50	2.10
	1	5.00	4.00	1.00	3.00	4.00	3.40
	2	6.00	4.00	3.50	4.00	4.50	4.40
	4	7.00	5.00	6.50	5.00	5.00	5.70
	6	3.00	2.50	1.50	3.00	3.00	2.60
Promedio	Control (+)	5.00	3.40	2.60	3.20	4.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	7.00	7.50	5.50	2.00	2.00	4.80
	1	2.50	4.00	2.00	5.00	2.00	3.10
	2	4.50	4.00	3.00	3.00	3.50	3.60
	4	0.50	2.00	2.00	2.50	4.00	2.20
	6	0.00	1.50	2.00	1.00	2.00	1.30
Promedio	Dosis 25 mg/kg	2.90	3.80	2.90	2.70	2.70	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.00	2.50	0.50	2.50	1.00	1.90
	1	3.50	4.50	3.50	4.50	4.50	4.10
	2	2.50	5.00	4.00	4.50	4.00	4.00
	4	1.50	3.50	4.50	2.50	3.00	3.00
	6	1.50	2.00	3.00	1.00	1.50	1.80
Promedio	Dosis 75 mg/kg	2.40	3.50	3.10	3.00	2.80	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	4.00	1.50	2.50	4.50	3.30
	1	7.00	7.50	3.00	4.00	5.50	5.40
	2	6.00	3.00	6.00	3.50	7.50	5.20
	4	4.50	3.00	1.50	2.00	6.00	3.40
	6	3.50	3.00	2.00	0.50	4.00	2.60
Promedio	Dosis 100 mg/kg	5.00	4.10	2.80	2.50	5.50	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.50	6.50	10.50	6.50	1.00	5.80
	1	5.50	9.50	9.50	4.00	4.00	6.50
	2	5.00	7.50	9.00	3.00	2.00	5.30
	4	5.00	7.00	5.00	3.00	4.00	4.80
	6	4.00	9.50	11.50	4.50	3.50	6.60
Promedio	Dosis 200 mg/kg	4.80	8.00	9.10	4.20	2.90	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	5.00	4.50	9.00	6.50	6.00	6.20
	1	4.00	3.50	4.00	5.50	4.50	4.30
	2	6.00	6.00	10.00	7.00	7.50	7.30
	4	6.00	4.00	3.00	5.50	5.00	4.70
	6	5.50	4.00	3.00	3.50	3.50	3.90
Promedio	Dosis 400 mg/kg	5.30	4.40	5.80	5.60	5.30	

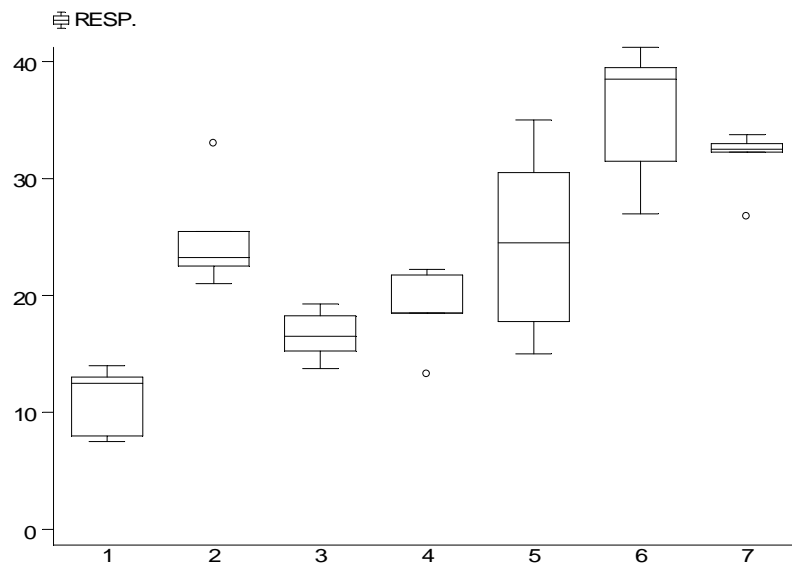
Resumen de Respuestas

Tratamiento	Media	Desv. St.	Frecuencia
Control negativo	11	3.0207615	5
Fármaco de Referencia	25.05	4.7315431	5
Dosis 25 mg/kg	16.6	2.2192341	5
Dosis 75 mg/kg	18.85	3.5907868	5
Dosis 100 mg/kg	24.55	8.3971721	5
Dosis 200 mg/kg	35.55	6.0477268	5
Dosis 400 mg/kg	31.65	2.7984371	5
Total	23.321429	9.1698778	35

Análisis de Varianza

Fuente	SS	df	MS	F	Prob > F
Entre Grupos	124560.0	6	20760.00	2.68	0.0350
Dentro Grupos	216900.00	28	7746.42857		
Total	341460.00	34	10042.9412		

Prueba de Dunnett:



12.1.6 Extracto Acuoso

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	2.00	1.00	1.00	2.50	1.00	1.50
	1	2.50	3.00	2.00	5.00	2.50	3.00
	2	2.00	1.00	5.00	2.50	5.00	3.10
	4	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00	0.80
	6	0.50	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00
Promedio	Control (-)	1.50	1.30	2.00	2.40	2.20	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	4.00	1.50	0.50	1.00	3.50	2.10
	1	5.00	4.00	1.00	3.00	4.00	3.40
	2	6.00	4.00	3.50	4.00	4.50	4.40
	4	7.00	5.00	6.50	5.00	5.00	5.70
	6	3.00	2.50	1.50	3.00	3.00	2.60
Promedio	Control (+)	5.00	3.40	2.60	3.20	4.00	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.50	4.50	1.50	6.50	1.50	3.50
	1	4.00	3.50	7.50	5.00	6.00	5.20
	2	3.50	6.00	6.00	4.50	6.00	5.20
	4	3.50	2.50	1.00	4.50	4.00	3.10
	6	2.50	1.00	1.00	4.00	2.00	2.10
Promedio	Dosis 25 mg/kg	3.40	3.50	3.40	4.90	3.90	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	1.00	3.50	5.00	4.00	4.50	3.60
	1	5.00	3.50	4.00	5.50	5.00	4.60
	2	3.50	4.00	3.00	4.50	5.00	4.00
	4	2.50	1.00	3.00	3.50	4.50	2.90
	6	4.00	4.00	4.00	5.50	4.00	4.30
Promedio	Dosis 75 mg/kg	3.20	3.20	3.80	4.60	4.60	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	3.00	2.00	3.00	1.00	1.50	2.10
	1	4.00	4.00	3.50	4.50	5.00	4.20
	2	4.50	3.00	4.00	4.50	8.50	4.90
	4	2.00	2.00	4.50	1.00	1.00	2.10
	6	1.00	2.00	4.50	3.00	3.00	2.70
Promedio	Dosis 100 mg/kg	2.90	2.60	3.90	2.80	3.80	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	5.50	2.50	4.00	1.00	4.50	3.50
	1	5.00	5.00	5.00	4.00	6.00	5.00
	2	4.00	7.50	4.50	5.50	3.50	5.00
	4	1.00	4.50	4.00	1.00	3.50	2.80
	6	3.00	3.50	4.00	3.50	5.50	3.90
Promedio	Dosis 200 mg/kg	3.70	4.60	4.30	3.00	4.60	

	RATA	1	2	3	4	5	Promedio
Tiempo	0	1.50	1.50	2.50	2.50	1.50	1.90
	1	4.00	2.50	4.00	4.00	4.00	3.70
	2	3.00	3.00	4.50	4.50	3.00	3.60
	4	5.50	2.50	4.00	4.00	2.50	3.70
	6	5.50	4.00	3.00	5.50	4.00	4.40
Promedio	Dosis 400 mg/kg	3.90	2.70	3.60	4.10	3.00	

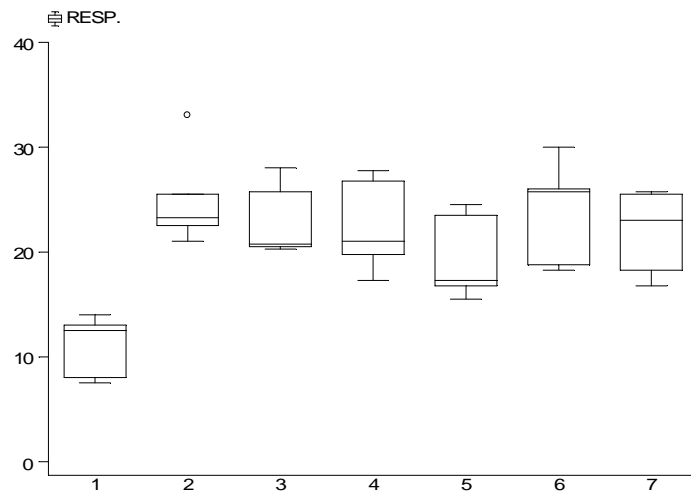
Resumen de Respuestas

Tratamiento	Media	Desv. St.	Frecuencia
Control negativo	11	3.0207615	5
Fármaco de Referencia	25.05	4.7315431	5
Dosis 25 mg/kg	23.05	3.5855613	5
Dosis 75 mg/kg	22.5	4.5552168	5
Dosis 100 mg/kg	19.5	4.1720798	5
Dosis 200 mg/kg	23.75	5.0836749	5
Dosis 400 mg/kg	21.85	4.1480417	5
Total	20.957143	5.8641125	35

Análisis de Varianza

Fuente	SS	df	MS	F	Prob > F
Entre Grupos	666.885714	6	111.147619	6.2	0.0003
Dentro Grupos	502.3	28	17.9392857		
Total	1169.18571	34	34.3878151		

Prueba de Dunnett:



12.2 CARÁCTERIZACIÓN FITOQUÍMICA

Catopheria chiapensis (Linimento)

EXTRACTO ACETATO DE ETILO

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

*Distancia entre el punto de partida y el eluyente: 8

12.2.1 Investigación de alcaloides:

Estándares: atropina y papaverina al 1% en metanol (10 microlitros)

Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10).

Detección		Atropina		Papaverina		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia	0.36	Marrón	0.68	Marrón fuerte	0.5	Naranja
						0.84	Marrón
						0.88	Marrón fuerte
						0.98	Naranja

UV-365 nm	Fluorescencia azul o amarilla	Origen	Amarillo	0.65	Amarillo FI	0.05 0.06 0.09 0.09 0.34 0.5 0.73	Amarillo Naranja Rojo Amarillo Naranja Marrón Naranja
Reactivo Dragendorff		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Marrón o naranja	0.36	Naranja	0.68	Naranja	0.84 0.90	Verde claro Verde Fuerte

12.2.2 Investigación de Flavonoides:

Estándar: Flavonoides al 0.05% en metanol (10 microlitros).

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

Detección		Quercetina		Rutina		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Azul oscuro	0.89	Marrón obs.	0.10	Marrón	0.68	Marrón obs
				0.45	Marrón	0.86	Verde
						0.90	Marrón obs
UV-365 nm	Fluorescencia azul, amarillo o verde.	0.89	Marrón obs	0.11	Naranja	0.90	Amarillo
				0.52	Naranja		
				0.75	Naranja		

Reactivo de Productos Naturales		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-365 nm	<u>Flavonoles:</u>						
	Glicósidos de quercetina y myricetin: naranja.	0.74	Naranja	0.1	Naranja	0.45	Naranja FI
	Glicósidos de kaemferol e isorhamnetina: amarillo-verde.	0.89	Naranja FI	0.45	Naranja FI	0.69	Naranja
				0.55	Naranja	0.89	Naranja FI
	<u>Flavones:</u>						
	Glicósidos de luteolina: naranja.						
	Glicósidos de apigenina: amarillo-verde.						

12.2.3 Investigación de Antocianinas:

Estándar: Azul de metileno 5mg/10mL en metanol

Rojo de sudán/amarillo naftol: 5mg/5mL en metanol, y 5mg/5mL en cloroformo. Las dos soluciones se mezclan, y 5 L son usados para la cromatografía.

Fase móvil: n-butanol-ácido acético glacial-agua, (8:2:4).

Detección		Azul metileno		Rojo de sudán/amarillo naftol		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Rojo y azul-violeta	0.39	Azul	0.80	Rojo	0.34	Azul
		0.44	Celeste	0.88	Lila	0.39	Azul
		0.50	Azul			0.59	Azul
						0.71	Verde
						0.78	Azul
						0.89	Verde
Reactivo de Anisaldehído-ácido sulfúrico		R _f	Color observado	R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Picronina: rojo-violeta.	0.29	Celeste	Origen	Negro	0.46	Verde obs

12.2.4 Investigación de antraquinonas:

Estándar: Antrona al 1% en metanol.

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

Detección		Antrona		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia	0.88	Amarillo	0.85	Amarillo
				0.88	Verde
				0.89	Amarillo-verde
UV-365 nm	Fluorescencia amarillo, rojo y marrón.	0.83	Verde	0.66	Rojo Fluorescente
				0.76	Rojo Fluorescente
				0.88	Rojo Fluorescente
				0.90	Rojo Fluorescente
Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10%		R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Antraquinonas: rojo.	0.88	Amarillo	0.85	Amarillo
	Antronas y antralonas: amarillo.			0.88	Verde

UV-365 nm	Antraquinonas: rojo.	0.83	Verde	0.76	Rojo
	Antronas y antralonas: amarillo.			0.88	Marrón
				0.90	Rojo

12.2.5 Investigación de cumarinas:

Estándares: ácido p-coumarínico, cumarina al 1% en metanol.

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

Detección		Cumarina		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia marcada.	0.10	Azul	0.08	Marrón
		0.38	Azul	0.19	Marrón
		0.45	Marrón		
UV-365 nm	Cumarinas simples: Fluorescencia azul intenso o azul-verde. Furanocumarinas: fluorescencia amarilla, marrón o azul.	0.94	Amarillo	0.08	Rojo
				0.19	Rojo
Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10%		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-365 nm	Fluorescencia azul o verde.	0.10	Marrón	0.09	Marrón
		0.38	Marrón	0.20	Marrón
		0.45	Azul		
		0.94	Amarillo		

12.2.6 Investigación de cardenólidos y bufadienólicos:

Estándar: Digoxina 5 mg/2mL de metanol (20 microlitros).

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

Detección		Digoxina		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia	0.83	Lila	0.2	Verde
				0.83	Verde
				0.86	Verde claro
UV-365 nm	Cardenólidos: fluorescencia. Bufadienólidos: fluorescencia Glicósidos cardenólidos: no fluorescen en ésta región.	0.83	Amarillo	0.21	Amarillo
				0.41	Marrón
				0.51	Marrón
				0.58	Naranja
				0.68	Naranja
				0.83	Rojo
				0.84	Amarillo
0.86	Corinto				

Antimonio III		R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Violeta o Marrón.	Origen	Marrón	---	---
UV-365 nm	<p>Fluorescencia.</p> <p><u>Derivados de g-strophanthidina:</u> K-strophanthosida,, k-strophanthidina- Cymarina, helveticosina, erysimosina, G-strophanthina, convallatoxinA: Naranja, marrón pardo o amarillo-verde.</p> <p><u>Glicósidos digitálicos:</u> Digitoxina, acetildigitoxina Glicósido A purpurea, lanatosina A, Gitoxina, digoxina, Glicósido B purpurea, lanatoside B/C: azul oscuro o marrón.</p> <p><u>Glicósidos oleander:</u> azul.</p> <p><u>Bufadienólidos:</u> Proscillaridina, escillarena A, glucoscillarena, Scilliroside, glucoscilliroside, Hellebrina, helleborogenona: Amarillo-marrón, verde pálido y amarillo.</p>	0.83	Naranja-Marrón	0.11 0.22 0.34 0.46 0.51 0.58 0.83 0.84	Amarillo Amarillo Naranja Naranja Verde Verde Naranja Marón

12.2.7 Investigación de saponinas:

Estándar: Saponinas al 0.1% en metanol (10 microlitros).

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

Detección		Saponinas		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 y 365 nm	Con la excepción del ácido gliciretna, las saponinas no son detectadas.	---	---	---	---
Vainillina-ácido sulfúrico		R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Zonas azules, azul-violeta y a veces amarillentas	0.83	Amarillo	0.76	Verde

12.2.8 Investigación de Principios Amargos:

Estándar: artemisa al 1% en metanol, (20 microlitros).

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua, (77:15:8)

Detección		Acetato de Etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia	0.78	Marrón suave
		0.84	Marrón
		0.88	Marrón fuerte
UV-365 nm	Fluorescencia inespecífica	0.61	Naranja fluorescente
		0.70	Naranja fluorescente
		0.76	Naranja fluorescente
		0.81	Amarillo fluorescente
		0.82	Rojo fluorescente
		0.86	Corinto

Vainillina-ácido sulfúrico		R _f	Color observado
Visible	Neohesperidina, narangina, arpagoside: rojo-violeta	0.10	Gris
	Gentiopicroside, swertiamarina: marrón-rojo	0.15	Gris
	Conduranginas: azul-verde	0.39	Marrón suave
	Foliamentina, mentiafolina, quassin: azul	0.58	Marrón
	Marrubbina, absinthina, chinchín : azul.	0.71	Violeta
		0.79	Azul

12.2.9 Investigación de aceites volátiles:

Estándares: Linalool, eugenol en tolueno.

Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo, (93:7).

Detección		Linalol		Acetato de etilo	
Sin tratamiento		R _f	Color observado	R _f	Color observado
UV-254 nm	Fluorescencia. Ejemplo: anetol, safrol, apiol, eugenol. Otros compuestos que fluorescen son el cinamaldehído, anisaldehído, timol y piperitona	0.92	Azul	0.06	Marrón
				0.09	Marrón
				0.11	Marrón suave
				0.15	Marrón suave
				0.18	Marrón fuerte
				0.22	Marrón
				0.32	Marrón
				0.39	Marrón fuerte
				0.44	Marrón
				0.56	Marrón
				0.92	Marrón suave
				0.94	Naranja

UV-365 nm	Metil-antranilato: muestra intensa fluorescencia azul.	3.9 7.4	Amarillo Amarillo	0.06 0.09 0.10 0.18 0.19 0.22 0.34 0.40 0.45 0.94	Marrón Rojo Amarillo Rojo Corinto Corinto Corinto Corinto Rojo Corinto
Vainillina-ácido sulfúrico		R _f	Color observado	R _f	Color observado
Visible	Las coloraciones observadas varían entre azul intenso, verde, rojo y marrón.	0.02 0.09 0.44 0.54 0.83 0.90	Azul-verde Lila Azul-verde Lila Azul Lila	0.05 0.08 0.11 0.18 0.21 0.29 0.34	Azul-verde Verde Azul-verde Verde Azul-verde Lila Verde

				0.39	Azul-verde
				0.44	Azul-verde
				0.55	Lila
				0.72	Azul
				0.81	Azul
				0.88	Azul-verde
				0.92	Lila

12.1 ASPECTOS RELACIONADOS CON LA CROMATOGRAFÍA CAPA FINA PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN LA SEPARACIÓN POR CCF

- ⊗ Fase estacionaria.
- ⊗ Fase móvil.
- ⊗ Tipo de cubeta.
- ⊗ Adsorción previa de una mezcla de disolventes (acondicionamiento).
- ⊗ Humedad Relativa.
- ⊗ Actividad de la fase estacionaria.
- ⊗ Saturación de la cubeta y la fase estacionaria con vapores del eluyente.
- ⊗ Tamaño de grano de las partículas en la fase estacionaria,
- ⊗ Tamaño de las manchas aplicadas.
- ⊗ Distancia entre la posición inicial de la sustancia y el nivel del eluyente en la cubeta de separación
- ⊗ Gradientes de eluyente (distribución irregular a lo largo del recorrido de los distintos componentes del eluyente.
- ⊗ Alteraciones de la calidad de la fase estacionaria.
- ⊗ Velocidad de flujo de la fase móvil.
- ⊗ Magnitud del R_f .
- ⊗ Temperatura.
- ⊗ Volumen de la muestra.
- ⊗ Aglomerante de la fase estacionaria.
- ⊗ Espesor irregular de capa en la fase estacionaria.
- ⊗ Fabricación de la fase estacionaria.
- ⊗ Fabricación de la fase estacionaria.

- ⊗ Espesor de la capa estacionaria.
- ⊗ Convecciones en la fase gaseosa de la cubeta de separación.
- ⊗ Tipo de desarrollo (flujo ascendente/descendente/horizontal de la fase móvil)
- ⊗ Impurezas en el eluyente.
- ⊗ Recorrido.
- ⊗ pH.

$$R_f = \frac{\text{Distancia entre el punto de partida y la mancha de la sustancia}}{\text{Distancia entre el punto de partida y el frente del eluyente}}$$

El R_f se considera un valor sólo orientativo debido a los numerosos factores, difícilmente controlables simultáneamente, que influyen en la retención. Una sustancia eluida bajo condiciones idénticas puede emplearse como patrón para determinar un valor relativo de R , el R_f o R_{st} . (11.27)

12.5 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

12.5.1 Ficha bibliográfica:

Reino:	Vegetal
Subreino II:	Embryobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnolioopsida
Subclase VI:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae (Labiatae)
Género:	Catopheria
Especie:	<u>Catopheria chiapensis</u>

12.5.2 Nombre científico:

Catopheria chiapensis Gray ex. Benth (11.15)

12.5.3 Nombres comunes:

Esta planta herbácea es conocida comúnmente como linimento, bajlac che, baxlak ce, milimento (deformación de linimento) y en K'ekchí es llamada bajlak'en (11.15).

12.5.4 Descripción botánica:

Es una hierba fuertemente aromática, anual o perenne, arbustiva, de 1 a 3 m. De alto, simple o escasamente ramificada. Los tallos presentan cuatro ángulos, con pubescencia finamente adpresa o puberulenta; de hojas grandes, ovadas o anchamente deltoide-ovadas que miden de 10 a 18 cm de largo y de 7 a 11 cm de ancho, largamente acuminadas en el ápice y redondeadas o subcordadas en la base, decurrentes en el peciolo, denticuladas o subenteras, finamente escaberulosas en el haz y densamente tomentosas, puberulentas o grabras en el envés. Las flores son de color lila-blanquecino.

Crece en zonas templadas, entre los 900 a 1,400 metros sobre el nivel del mar, donde el suelo es franco arcilloso (11.15).

12.5.5 Origen y distribución:

Es perteneciente a la familia Labiatae, nativa de pendientes muy inclinadas, crece desde Chiapas México, a Honduras y El Salvador, entre 1,000 y 1,700 metros de altitud. En Guatemala crece en la región de Alta Verapaz, Chiquimula, Guatemala (volcán de Pacaya), Huehuetenango y otras zonas templadas (11.15).

12.5.6 Características y composición fitoquímica:

La composición fitoquímica de esta especie vegetal aún no ha sido dilucidada. Se han visto pocas plantas de esta especie en floración; aparentemente, ésta florece en mucho más proporción durante los meses de invierno (11.15).

La planta puede ser fácilmente reconocida por el fuerte olor que expele, muy parecido al de los linimentos comerciales y de allí su nombre (11.15).

12.5.7 Usos Polulares:

Las hojas se emplean en forma de emplasto para aliviar la cefalea, manteniéndolas sobre las sienas hasta que se sequen.

Se utilizan también como un remedio para la ronquera y para aliviar la sinusitis.

En Alta Verapaz, el extracto de las hojas se emplea principalmente contra el dolor de cabeza (11.15).

12.5.8 Toxicidad:

En el estudio de las infusiones al 10% de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento), no presentó toxicidad aguda evidente(11.8).

12.6 ARCHIVOS DE NAPRALERT PARA Catopheria chiapensis (Linimento).

NAPRALERT, siglas Alerta para Productos Naturales. Es una base de datos dinámica que es puesta al día periódicamente y que es una fuente literaria desde 1975. Los datos de NAPRALERT, representa una síntesis de información para más de 175,000, para revistas científicas, libros, abstractos y patentes, colecta sistemáticamente literatura global desde 1975. Aproximadamente el 20% de la base de datos representa la información con prioridad desde 1975. La información abierta concerniente principalmente a datos de etnomedicina de plantas, reporte de efectos biológicos para extractos en organismos vivos y la ocurrencia de metabolitos químicos secundarios en organismos vivos, efectos biológicos reportados para compuestos químicos de origen natural de estructura química definida, son también incluidos en la base de datos.

NAPRALERT(TM), es actualmente conservada por el Programa de colaboradores de investigación de Ciencias Farmaceuticas, Oficina del Decano, Colegio de Farmacia de la Universidad de Illinois de Chicago, 833 South Wood Street (m/c 877), Chicago, Il 60612.

⌘ Los archivos de NAPRALERT para Catopheria chiapensis (11/06/03)

Ningún nombre común, ni sinónimo, son disponibles para esta especie.

⌘ Información etnomédica para Catopheria chiapensis (11/06/03)

No hay información.

⌘ Actividad biológica para extractos de Catopheria chiapensis (11/06/03)

No hay información.

⌘ Información sobre compuestos para Catopheria chiapensis (11/06/03)

No hay información recabada.

⌘ Literatura citada:

Total de número de citas: 0

(11.19)