

EFICACIA DEL RIZOMA DE *SMILAX* *PURHAMPUY RUIZ* DE ECUADOR COMO ANTIINFLAMATORIO



Autores:

Pamela Katiuska Márquez Daza
Pilar Asunción Soledispa Cañarte
Glenda Marcela Sarmiento Tomalá
Alexandra Jenny López Barrera
Giomara Quizhpe Monar

EFICACIA DEL RIZOMA DE *SMILAX* *PURHAMPUY RUIZ* DE ECUADOR COMO ANTIINFLAMATORIO

Mg. Pamela Márquez Daza

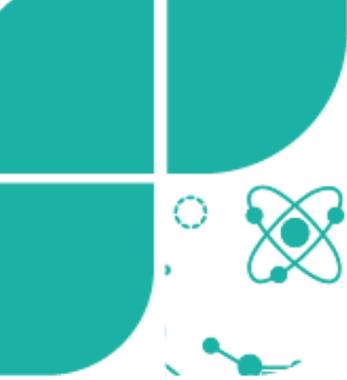
MSc. Pilar Soledispa Cañarte

MSc. Glenda Sarmiento Tomalá

MSc. Alexandra López Barrera

Mg. Giomara Quizhpe Monar





Título: EFICACIA DEL RIZOMA DE *SMILAX PURHAMPUYRUIZ* DE ECUADOR COMO ANTIINFLAMATORIO

AUTORES

Mg. Pamela Márquez Daza
MSc. Pilar Soledispa Cañarte
MSc. Glenda Sarmiento Tomalá
MSc. Alexandra López Barrera
Mg. Giomara Quizhpe Monar

REVISIÓN TÉCNICA

Zoraida del Carmen Burbano Gómez
Francisca Patricia Jiménez Granizo

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

Monica Murillo Mendoza

© de los textos: los autores

© de la presente edición: CEO Editorial

PRIMERA EDICIÓN: 27 DE FEBRERO DE 2024

ISBN: 978-9942-7196-3-8

Publicado por acuerdo con los autores

Capacitación y Estrategia Online

CEO Editorial

Guayaquil – Ecuador

Fecha: 27- 02- 2024 Cámara Ecuatoriana de Libro

NOTA EDITORIAL: Las opiniones y contenidos publicados en esta obra son de responsabilidad exclusiva de sus autores

INDICE



PROLOGO.....	1
INTRODUCCIÓN	3
PROBLEMA.....	4
I.1. Planteamiento y Formulación del Problema	4
I.2. Justificación e Importancia	5
I.3. Hipótesis.....	6
I.4. Objetivos	6
I.4.1. Objetivo General.....	6
I.4.2. Objetivos Específicos	6
MARCO TEÓRICO	7
II.1. Antecedentes de la investigación	7
II.2.1. Características botánicas	8
II.3.1. Características botánicas	9
II.3.2. Distribución	9
II.3.3. Composición química	9
II.3.4. Usos medicinales de las especies de Smilax.....	10
-Clasificación Taxonómica	12
II.5. Inflamación.....	14
II.5.1. Signos clínicos	15
II.5.2. Clasificación de la Inflamación.....	15
II.6. Historia de los AINEs	15
II.6.1. Mecanismo de acción de los AINEs	16
II.6.2. Ciclooxigenasa.....	16
II.6.3. Mecanismo de acción de los AINEs	17
II.6.4. Ciclooxigenasa.....	17
II.6.5. Mecanismo de la nefrotoxicidad inducido por AINEs	18

II.6.6. Manifestaciones clínicas de la reacción adversa de los AINEs.....	19
II.7. Corticoesteroides	20
II. 7.1. Corticoides de uso tópico.....	21
II. 7.2. Mecanismo de acción	21
II. 7.3. Efectos adversos de los corticoesteroides	22
• La potencia del corticoide	22
• La edad del paciente.....	23
• La zona de aplicación	23
II.8 Betametasona.....	23
II. 8.1. Mecanismo de acción	23
II. 9. Estudios preclínicos	24
II. 9.1. Errores relacionados con la investigación preclínica.....	25
II.10. Modelos experimentales antiinflamatorios.....	25
II.11. Histopatología	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
III.1. Tipo de Investigación.....	28
III.2. Equipos, Aparatos, Materiales y Reactivos.....	28
III.2.1. Equipos	28
III.2.2. Aparatos.....	28
III.2.3. Materiales.....	29
III.2.4. Reactivos	29
III.3. Muestra	30
III.4. Metodología Experimental.....	30
III.4.1. Diseño general de la metodología.....	30
III.4.3. Estudio farmacológico	31
III.4.4. Histopatología	34
III.4.5. Análisis de datos	35
IV.1. Determinación de la actividad antiinflamatoria	36

IV.2.1. Espesor y peso de las orejas del modelo de inflamación crónica y aguda...	36
IV.2.2. Porcentaje de inflamación e inhibición del modelo de inflamación crónica y aguda	40
IV.2. Análisis histológico.....	44
IV.3. Discusión de resultados	49
CONCLUSIONES	52
RECOMENDACIONES	53
GLOSARIO	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

PROLOGO

En el presente trabajo, se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* Se utilizó el modelo de inflamación crónica y aguda de edema auricular inducido por aceite de Croton. Se conformaron 5 grupos de 6 ratones: control negativo (A), control positivo tratado con betametasona (B), los grupos tratados con 10, 20 y 40 μ l del extracto (C, D, E). Luego de la aplicación de los tratamientos en la oreja izquierda se indujo la inflamación, y después de 6 horas se midió el espesor. Posteriormente, los biomodelos fueron sacrificados para obtener discos de 6 mm de diámetro de cada oreja, se los pesó para calcular el porcentaje de inflamación y de inhibición. De acuerdo a los resultados se concluyó que la especie posee actividad antiinflamatoria, siendo el grupo E (40 μ l), cuya concentración corresponde a 0.2 mg, quien presentó mayor inhibición después del fármaco control.



INTRODUCCIÓN

Dentro de los medicamentos más consumidos en el mundo están los antiinflamatorios, que son indispensables para tratar diversas enfermedades como la colitis ulcerosa, psoriasis, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal (EII) donde las dos más comunes de este grupo son la colitis ulcerosa crónica (CUC) y la enfermedad de Crohn (EC) (7).

Se estima que el consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) diariamente a nivel mundial es de 30 millones de personas. Si bien es necesario el consumo de este medicamento, el uso prolongado o irracional va a producir efectos adversos al organismo ocasionando un mal inclusive mayor que la propia enfermedad que se combate (9).

Para evitar los efectos adversos de los medicamentos, se usan extractos de las plantas medicinales cada vez con mayor frecuencia en el tratamiento de diferentes patologías, por lo cual resulta de interés incrementar los conocimientos en procesos, técnicas y métodos biológicos para el aprovechamiento seguro y efectivo de este material vegetal (1).

El género *Smilax*, conocida como zarzaparrilla, actualmente incluye más de 200 especies de plantas distribuidas en todo el mundo, una de ellas es *Smilax purhampuy R.*, que crece en zonas tropicales como Nicaragua, Perú, Venezuela y Ecuador (2). Durante la era precolombina, varias plantas medicinales americanas, incluida *Smilax*, llegaron a España y Portugal, además está documentado que por siglos las tribus indígenas de América Central y del Sur utilizaron *Smilax*, para tratar la impotencia sexual, el reumatismo, las enfermedades de la piel y como tónico para la debilidad física (3).

En la medicina tradicional, los rizomas del género *Smilax* se usan por sus propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, antipruríticas, antisépticas, diuréticas y tónicos. Estudios realizados en los extractos de especies de *Smilax* demostraron poseer actividades antiinflamatorias y analgésicas en varios modelos con animales(4).

En vista de lo antes mencionado, se considera importante usar plantas medicinales que ayuden a resolver problemas de salud, a mejor costo, mayor acceso y con reducidos efectos adversos.

PROBLEMA

I.1. Planteamiento y Formulación del Problema

La inflamación es un proceso fisiológico inducido por numerosos estímulos o agresiones del medio, que provocan una respuesta usualmente acompañada por conocidos signos clínicos como edema, rubor, calor, dolor y desorden de la función tisular (5).

La magnitud de la respuesta inflamatoria es esencial para la supervivencia de los organismos, ya que si esta es insuficiente resultaría en inmunodeficiencia, y si es excesiva o exagerada no tendría ningún beneficio para el organismo, sino que causaría morbilidad y mortalidad en enfermedades como arteriosclerosis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, entre otras (6).

La prescripción de fármacos es una actividad común del médico de atención primaria, sin embargo, es complejo el proceso de evaluación del paciente en donde hay casos en que se genera una prescripción de medicamentos no justificada (7).

La automedicación ocurre con mucha frecuencia en la mayoría de países en vías de desarrollo y se convierte un problema de gran importancia ya que los factores socioeconómicos son una de las principales razones al no poder acceder a servicios de salud (7).

Por este motivo, ha sido creciente el interés por el estudio de la actividad antiinflamatoria, ya que existe falta de conocimiento de los efectos y reacciones adversas de los fármacos Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs) que se consumen con frecuencia. Hay que mencionar que la propaganda incentiva al uso de AINEs sin hacer énfasis de los riesgos que tiene su uso indebido (8).

Por lo tanto, la formulación del problema es el siguiente:

¿Cuál será la concentración del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* con mayor actividad antiinflamatoria entre los diferentes grupos tratados?

I.2. Justificación e Importancia

Aproximadamente en el Reino Unido se prescriben AINEs en cerca de 24 millones de recetas anualmente y un 15% de sus consumidores son la población de edad avanzada, mientras que en Estados Unidos hay 70 millones de prescripciones anuales con más de 30.000 millones de tabletas de venta libre comercializadas anualmente. En 2004 se posicionó como el sexto grupo farmacológico con mayor importancia en volumen de ventas (9).

Estadísticamente el 25 % de los reportes de efectos adversos de todos los fármacos se relacionan a los AINEs y por esta razón, es relevante este grupo farmacológico, el cual ha sido muy usado debido a su versatilidad, ya que funciona como analgésico y antiinflamatorio, pero presenta inconvenientes en el organismo, específicamente sobre el tracto gastrointestinal, donde puede existir hemorragia digestiva, úlceras, una posible insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva en personas de edad avanzada y enfermedades pulmonares (9).

En la actualidad existen diversas variedades de especies de *Smilax* que presentan propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, diuréticas y antihiperuricémicas, como es el caso de la *Smilax china L* y *Smilax glabra*, donde se ha demostrado que sus tubérculos se han utilizado en medicina tradicional para el tratamiento de la furunculosis, la gota, los tumores y la inflamación (10).

Hasta el momento, no existe ningún estudio sobre la actividad antiinflamatoria que posee la especie *Smilax purhampuy R.*, sin embargo se conoce que el género *Smilax* en general posee compuestos que presentan actividad antiinflamatoria y se convierte en una excelente opción para ser objeto de estudio, y en el futuro desarrollar nuevas alternativas para la salud humana (11).

En vista de lo antes mencionado, este estudio evaluará la actividad antiinflamatoria que puede poseer el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.*, para así poder encontrar una ayuda terapéutica y natural a problemas relacionados a la inflamación.

I.3. Hipótesis

El extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* presenta actividad antiinflamatoria en los ratones a las dosis ensayadas.

I.4. Objetivos

I.4.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* a distintas concentraciones.

I.4.2. Objetivos Específicos

1. Establecer la actividad antiinflamatoria y la concentración del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* que produzca menor porcentaje de inflamación y mayor porcentaje de inhibición en las orejas de los ratones.
2. Analizar los resultados histopatológicos de las estructuras anatómicas de las orejas de los ratones en un modelo de inducción de inflamación aguda y crónica.



MARCO TEÓRICO

II.1. Antecedentes de la investigación

Debido a que existe poca información sobre la especie *Smilax purhampuy* R., se tuvo como base investigaciones que se han realizado previamente de otras especies del género *Smilax*.

Estudios realizados han señalado que diferentes extractos del género *Smilax*, presentan actividad antiinflamatoria, antinociceptiva, antifúngica, antiestrogénica, diurética y antihiperuricémica (12).

Según un estudio realizado por Hirota et al. (12) informan que el extracto etanólico de *Smilax larvata* Griseb. posee compuestos como polifenoles, flavonoides y cumarinas responsables de la actividad antiinflamatoria, la cual fue evaluada mediante el método de edema plantar inducido por carragenina, donde las ratas fueron tratadas oralmente con diferentes concentraciones del extracto, pero sólo la dosis de 100 mg/Kg indujo el efecto antiinflamatorio.

Otro trabajo similar fue elaborado por Zhong et al. (13) quienes describen el aislamiento y la aclaración de la estructura de un nuevo triflavonoide, kandelin B-5, y 19 compuestos fenólicos responsables de la actividad antiinflamatoria del rizoma de *Smilax china* L., utilizado para el tratamiento de varias enfermedades crónicas.

Khan et al. (2) demostraron el mecanismo de acción del extracto metanólico de *Smilax ornata* Lem. como agente antiinflamatorio. Utilizaron el método de edema inducido por histamina, bradiquinina y prostaglandina, dando como resultado una actividad antiinflamatoria significativa del extracto de 400 mg/kg, en los modelos de edema inducidos por bradiquinina e inducidos por prostaglandinas.

En el estudio realizado por Morán et al. (14) utilizaron el método de edema auricular inducido con aceite de crotón y se estableció que el extracto etanólico del rizoma *Smilax domingensis* Willd posee actividad antiinflamatoria, debido a que la dosis donde se presentó mayor porcentaje de inhibición fue 1000 mg/kg.

Salaverry et al. (15) brindaron apoyo científico para el uso tradicional del extracto de *Smilax campestris* Griseb., también conocida como zarzaparrilla

blanca, ya que comprobaron que el extracto de los rizomas y partes aéreas de la especie poseen actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antifúngicas, además no se observaron efectos tóxicos in vivo.

En una reciente investigación realizada por Shu et al. (16) obtuvieron tres nuevos glucósidos flavonoides de *Smilax glabra* Roxb., quienes mostraron tener una modesta actividad antiinflamatoria, además se descubrió que los flavonoides de los rizomas tenían propiedades antioxidantes y efectos protectores sobre el estrés oxidativo renal inducido por plomo, por lo que un estudio evaluó estos efectos en ratas con nefropatía por ácido úrico (17).

Zhou et al. (4) describen el aislamiento de siete nuevas saponinas del extracto de etanol al 70% del rizoma de *Smilax davidiana*, responsables de las actividades antiinflamatorias y citotóxicas.

Actualmente se reveló que los extractos de metanol y acetato de etilo de *Smilax ornata* Lem. son eficaces en el tratamiento de trastornos inflamatorios agudos, comprobándose a través del método de edema plantar inducido por carragenina. Además, el examen fitoquímico del extracto de metanol identificó la presencia de alcaloides, taninos, saponinas, esteroides, glucósidos, fenoles y terpenoides, compuestos que son similares a los encontrados en la especie *Smilax china*, lo que demuestra que las plantas del mismo género, pero diferentes especies poseen similares compuestos y por lo tanto actividades semejantes (18).

II.2. Familia Smilacaceae

Smilacaceae es una familia de arbustos con ramas altas y rastreras representadas por el género *Smilax* con cerca de 370 especies que se distribuyen principalmente en las zonas tropicales, templadas y subtropicales en todo el mundo (4), se utilizan ampliamente en la medicina tradicional para el tratamiento del reumatismo, sífilis y como diurético (12).

II.2.1. Características botánicas

La familia Smilacaceae por lo regular presenta bejucos leñosos trepadores con rizomas engrosados en forma tuberosa. Las plantas tienen zarcillos que nacen de la base del pecíolo, sus hojas poseen de tres a nueve nervios,

tienen seis estambres, tres carpelos y el ovario es súpero, el fruto es una baya que tiene de una a tres semillas (19).

II.3. Género Smilax

El género Smilax desde la antigüedad tienen una gran importancia medicinal, recibe diversos nombres tradicionales entre ellos bejuco de la vida, cocolmea y zarzaparrilla (19).

II.3.1. Características botánicas

Las especies del género Smilax, crecen hasta 50 m de longitud, poseen zarcillos emparejados para escalar. Producen flores pequeñas rojas, azules o negras y bayas, el tallo está cubierto de espinas y el rizoma es largo y tuberoso, llega a extenderse de dos a tres metros, es inodoro e insípido (18).

Las especies de la familia Smilacaceae pueden confundirse con el género Dioscoreaceae, pero la diferencia está que la base de las hojas de Smilax es decurrente al ápice del pecíolo y poseen zarcillos (19).

II.3.2. Distribución

Las especies del género Smilax son nativas de América del Sur, Jamaica, China y México (18). Cerca de 250 especies del género Smilax se encuentran en climas tropicales y los extractos de sus rizomas han sido usados para tratar diversas enfermedades, entre las especies más utilizadas están Smilax domingensis, Smilax aristolochiaefolia Mill, Smilax ornata Lem, Smilax china, Smilax larvata, Smilax glabra, Smilax angustiflora, entre otras (19).

II.3.3. Composición química

Los extractos de los rizomas de varias especies de Smilax han sido usados en la medicina gracias a la presencia de saponinas esteroidales, flavonoides, polifenoles, fitoesteroles y triterpenoides (20).

Estudios previos han revelado la presencia de un flavonoide principal entre las especies de Smilax, Astilbin, el cual demostró tener actividad inmunosupresora, y ser el activo para el tratamiento de humanos en enfermedades inmunes (20).

También informaron la presencia de 104 saponinas esteroidales en 20 especies diferentes de Smilax, las saponinas son el componente bioactivo

característico de este género ya que presentaron importantes efectos antifúngicos, citotóxicos y antiinflamatorios (20).

II.3.4. Usos medicinales de las especies de Smilax

Los rizomas de las especies de Smilax son muy famosos en la medicina tradicional, se usan como antiinflamatorios, antimicóticos, antipruríticos, antisépticos, curativos, diuréticos y tónicos (19).

Entre ellos se encuentran los rizomas de *S. china* y *S. glabra*, se emplean para tratar enfermedades inflamatorias pélvicas crónicas y artritis reumática. También son utilizados frecuentemente los rizomas de *S. riparia*, *S. nipponica*, *S. bockii*, *S. microphylla* y *S. discotis* ya que se registran entre los medicamentos herbales chinos para tratar el dolor en las articulaciones, el edema y artritis reumatoide (13).

-Smilax china L.

Recientemente se descubrieron cinco flavonoides responsables de la actividad farmacológica de la especie *Smilax china*; su rizoma es usado en preparaciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades crónicas, como la inflamación en los órganos genitales femeninos, mientras que las hojas son usadas como agente desintoxicante (13).

-Smilax larvata Griseb

El té de las partes aéreas de *Smilax larvata* Griseb., conocida como “uña de gato”, se usa etnofarmacológicamente como agente antiinflamatorio en el sur de Brasil (12).

-Smilax glabra Roxb

En China tradicionalmente se consume el rizoma de *Smilax glabra* Roxb en sopas y té para el tratamiento de la gota (17), mientras que en Tailandia, Arabia y Europa se usa en la preparación de medicamentos para el tratamiento del cáncer y afecciones de la piel (21).

-Smilax campestris Griseb

Esta especie también es conocida como "zarzaparrilla blanca", está distribuida en el norte y este de América del Sur. Sus raíces y rizomas han sido empleados

por diferentes tribus indígenas en el tratamiento de enfermedades inflamatorias de la piel y reumatismo, además un estudio demostró que los extractos alcohólicos de los rizomas y partes aéreas presentan actividades antioxidantes y antifúngicas (15).

-Smilax ornata Lem

En la antigüedad las tribus indígenas de América Central y del Sur usaron *Smilax ornata* Lem. para tratar el reumatismo, la impotencia sexual, enfermedades de la piel y para la debilidad física, con el paso del tiempo los comerciantes la llevaron a Europa, donde los médicos la utilizaron como tónico, purificador de sangre, diurético, para tratar la sífilis y otras enfermedades de transmisión sexual. Actualmente se usa entre 1 y 4 g del rizoma seco como decocción para tratar el reumatismo crónico, artritis reumatoide, además como coadyuvante para la lepra y psoriasis (3).

- Smilax domingensis Willd

La especie *Smilax domingensis* W. es nativa de México y Panamá, tiene una gran variedad de usos atribuidos por la población, particularmente antiinflamatorios, inmunomoduladores, antimicrobianos, diuréticos y tónicos (22).

Otra de las plantas del género *Smilax* a tomar en cuenta es *Smilax purhampuy* R. la cual se encuentra en Ecuador y otros países de Sudamérica. Ha tomado gran importancia debido a la variedad de propiedades medicinales que poseen los extractos de distintas partes de la planta y por este motivo, en este trabajo se va a comprobar específicamente la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de sus rizomas, ya que existe revisión bibliográfica que indica la presencia de esta actividad en otras especies del mismo género.

II.4. Smilax purhampuy R.

La especie *Smilax purhampuy* R. antes era conocida como *Smilax febrífuga* o zarzaparrilla ecuatoriana, se encuentra en Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela, es usada tradicionalmente para tratar la fiebre, problemas digestivos y renales, afecciones de la piel, triglicéridos, artritis, inflamaciones intestinales y estomacales.

II.4.1. Taxonomía de *Smilax purhampuy* R.

El Herbario GUAY ubicado en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil; reportó la clasificación y descripción taxonómica de *Smilax purhampuy* R. como muestra el Anexo A.

-Descripción taxonómica.

Liana, glabra. Zarcillos presentes. Hojas simples, alternas, plinervadas; lámina cactácea, elíptica hasta elíptica-lanceolada, 15-20 x 8-12 cm, base obtusa, ápice acuminado, margen entero, glabra. Flores y frutos no vistos.

-Clasificación Taxonómica

En la Tabla II se muestra la clasificación Taxonómica de *Smilax purhampuy* R.

Tabla II. Clasificación taxonómica *Smilax purhampuy* R.

Clase	Equisetiposida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex. Takht.
Superorden	Lilianaes Takht.
Orden	Liliales Perleb.
Familia	Smilacaceae Vent.
Género	<i>Smilax</i> L.
Especie	<i>purhampuy</i> Ruiz
Nombre científico	<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz
Nombre vulgar	Zarzaparrilla

Fuente: Herbario GUAY (2019)

II.4.2. Tamizaje fitoquímico del rizoma de Smilax purhampuy R.

En el tamizaje fitoquímico se determinó la composición química cualitativa del rizoma y se observó la presencia de compuestos grasos, alcaloides, cumarinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, saponinas, fenoles, tanino de tipo pirocatecólicos, quinonas, flavonoides, antocianidinas y estructuras tipo polisacáridos (23).

II.4.3. Compuestos del extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R.

La cromatografía de gases acoplado a masas identificó los compuestos presentes en el extracto etanólico del rizoma, los de mayor intensidad son el ácido butanodioico (ácido succínico), ácido hexadecanoico (palmítico) y ácido octadecenoico (ácido esteárico) (23).

La cromatografía en capa fina permitió reconocer que el rizoma posee compuestos con características de estructuras fenólicas; que pueden ser del tipo glicosiladas y características de estructuras terpénicas como los triterpenoides (23).

II.4.4. Toxicidad de los extractos etanólico y acuoso del rizoma de Smilax purhampuy R.

A las diferentes dosis trabajadas con la administración de los extractos acuoso y etanólico del Smilax purhampuy R. a los animales de experimentación y bajo las condiciones de ensayo de toxicidad oral aguda no se establecieron dosis tóxicas (24).

A la dosis 2000, 300, 50 y 5 mg/Kg que fueron evaluadas no se reportó mortalidad ni presencia de signos tóxicos para ninguno de los grupos, en lo relacionado a peso corporal, consumo de agua y observación macroscópica. Por lo que se puede considerar que esta pudiera encontrarse por encima de los 2000mg/kg (24).

El uso de los extractos de plantas en el tratamiento de varias enfermedades se convirtió en una práctica popular cuando la gente se percató que la duración de los medicamentos es limitada y el mal uso de los mismos está causando efectos adversos. Este es el caso del uso de distintos medicamentos

antiinflamatorios, que, si bien ayudan a mitigar la inflamación, llegan a causar efectos adversos muy dañinos al organismo al ser usados de manera prolongada.

II.5. Inflamación

Según González et al. (25), la inflamación es una respuesta del organismo a distintas agresiones endógenas o exógenas, donde actúan simultáneamente la respuesta inmune innata y la adquirida, las cuales tienen numerosos efectos locales y sistémicos, con la presencia característica de cinco signos clínicos: rubor, tumor, impotencia funcional, calor y dolor, causados por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre en tejidos extravasculares donde exista una lesión.

La respuesta inflamatoria según León et al. (6) está muy relacionada con el proceso de reparación, ya que es útil para destruir, atenuar o tener localizado al agente lesivo, y a su vez inicia una serie de eventos que determinan la cura o reconstrucción del tejido lesionado; y por esta razón se afirma que la inflamación es una respuesta de carácter protectora, ya que si no existiera este proceso, las infecciones se propagarían incontroladamente, las heridas y los órganos lesionados no se curarían, dando como resultado lesiones supurativas permanentes. Cabe recalcar que en las reacciones alérgicas y enfermedades crónicas el proceso inflamatorio se presenta como mecanismo patogénico elemental.

Villalba et al. (5) indica que la inflamación es un proceso fisiológico, defensivo natural que sufre el organismo frente a agresiones externas, con la presencia de signos clínicos como dolor, calor, rubor y edema. En este proceso ocurre una reacción inmediata frente al agente agresor, donde los fagocitos se encuentran con el agente lesivo y lo intentan destruir por medio de la secreción de sustancias que actúan sobre las células endoteliales, lo que genera cambios en la permeabilidad vascular y hacen que migren los leucocitos al sitio donde ocurre la inflamación para que ocurra la fagocitosis de agentes patógenos, y a su vez vuelve a la normalidad cuando la lesión es restaurada.

Todos los autores concuerdan que la inflamación es la encargada de librar al organismo de una agresión celular, sin embargo, aunque esta sea aguda o

crónica, se deben tomar medidas farmacológicas para mitigar las secuelas que produce la inflamación, sin interferir con los efectos favorables al organismo.

II.5.1. Signos clínicos

Hace mucho tiempo, los síntomas del proceso inflamatorio han sido definidos y suelen describirse como “Tétrada de Celso” en honor a la descripción que realizó en el siglo I a.C.: “en verdad los signos de la inflamación son cuatro: tumor y rubor con calor y dolor” (6).

La suma de factores como la agresión, mediadores de la inflamación y el aumento de presión estimulan las terminaciones nerviosas lo cual produce el dolor. Debido al aumento del flujo vascular da como resultado el enrojecimiento de la zona afectada (rubor) y del aumento de su temperatura; el aumento de la permeabilidad capilar junto con el hiperflujo de sangre trae como consecuencia el acúmulo de agua en el intersticio (edema), lo que produce un incremento de volumen o abultamiento (25).

Cuando la respuesta inflamatoria es grave, pueden existir alteraciones en el organismo que se ven reflejados en los resultados de análisis de laboratorio como son: Aumento de la velocidad de sedimentación globular (VSG) y el incremento de los valores de proteína C reactiva en plasma (25).

II.5.2. Clasificación de la Inflamación

La inflamación presenta dos diferentes etapas: aguda y crónica. La inflamación aguda se caracteriza por la exudación de líquido y la migración de leucocitos, mientras que la crónica tiene una duración mayor y se caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular (6).

Entre los medicamentos que existen para tratar la inflamación general o producida por enfermedades como la artritis reumatoide, osteoartritis, lupus, tenemos a los AINEs (Antiinflamatorios No Esteroideos) y los corticoesteroides. Ambos tienen distintos mecanismos de acción y diversos efectos adversos por su uso prolongado y otros factores, los cuales se revisarán a continuación.

II.6. Historia de los AINEs

Hace aproximadamente 3.500 años Hipócrates prescribía el extracto y las hojas de corteza de sauce para contrarrestar la inflamación y la fiebre. Tiempo

después, en 1899 se introduce al mercado el ácido acetilsalicílico, el cual poseía mejor sabor que el ácido salicílico que proviene de la salicilina, el principio activo de la *Salix alba* (8).

En 1961 el profesor Stewart Adams descubrió las propiedades antiinflamatorias que posee el ibuprofeno (26). En 1976 el científico británico John Vane, descubre que el mecanismo del ácido acetilsalicílico es la inhibición de la producción de prostaglandinas mediante el bloqueo de la enzima prostaglandina sintetasa o ciclooxigenasa (COX) y gracias a este descubrimiento se le fue otorgado en 1982 el Premio Nobel (8).

La razón principal para que se agrupen diferentes fármacos con estructuras químicas distintas bajo la denominación de AINEs, es debido a que todos inhiben la enzima COX. El ácido acetilsalicílico en el tratamiento de la artritis reumatoidea y osteoartritis trajo como consecuencia en el desarrollo de los AINEs, la aparición de nuevas moléculas y se reconoció a la enzima COX como blanco terapéutico para enfermedades inflamatorias (8).

II.6.1. Mecanismo de acción de los AINEs

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son una de las clases de fármacos más utilizadas en el mundo debido a sus múltiples funciones como: antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos. A pesar de que este grupo se diferencia entre sí en la clase química, todos inhiben la síntesis de prostaglandinas (8). Hay que mencionar que las prostaglandinas cumplen muchas funciones fisiológicas en beneficio a los órganos del cuerpo humano, y por este motivo los AINEs frecuentemente tienen efectos secundarios.

II.6.2. Ciclooxigenasa

Fue demostrada la existencia de dos isoformas de COX en 1991 las cuales fueron denominadas COX-1 y COX-2. Ambas isoformas son codificadas por distintos genes, son similares en su estructura química. La isoforma COX-1 se

produce de forma constante en muchos tejidos, es decir, no necesita ningún estímulo, mientras que la COX- 2 es estimulada por algún proceso inflamatorio (27).

La COX-1 tiene como objetivo proteger la mucosa gástrica, controlar el flujo después, en 1899 se introduce al mercado el ácido acetilsalicílico, el cual poseía mejor sabor que el ácido salicílico que proviene de la salicilina, el principio activo de la *Salix alba* (8).

En 1961 el profesor Stewart Adams descubrió las propiedades antiinflamatorias que posee el ibuprofeno (26). En 1976 el científico británico John Vane, descubre que el mecanismo del ácido acetilsalicílico es la inhibición de la producción de prostaglandinas mediante el bloqueo de la enzima prostaglandina sintetasa o ciclooxigenasa (COX) y gracias a este descubrimiento se le fue otorgado en 1982 el Premio Nobel (8).

La razón principal para que se agrupen diferentes fármacos con estructuras químicas distintas bajo la denominación de AINEs, es debido a que todos inhiben la enzima COX. El ácido acetilsalicílico en el tratamiento de la artritis reumatoidea y osteoartritis trajo como consecuencia en el desarrollo de lo AINEs, la aparición de nuevas moléculas y se reconoció a la enzima COX como blanco terapéutico para enfermedades inflamatorias (8).

II.6.3. Mecanismo de acción de los AINEs

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son una de las clases de fármacos más utilizadas en el mundo debido a sus múltiples funciones como: antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos. A pesar de que este grupo se diferencia entre sí en la clase química, todos inhiben la síntesis de prostaglandinas (8). Hay que mencionar que las prostaglandinas cumplen muchas funciones fisiológicas en beneficio a los órganos del cuerpo humano, y por este motivo los AINEs frecuentemente tienen efectos secundarios.

II.6.4. Ciclooxigenasa

Fue demostrada la existencia de dos isoformas de COX en 1991 las cuales fueron denominadas COX-1 y COX-2. Ambas isoformas son codificadas por distintos genes, son similares en su estructura química. La isoforma COX- 1 se

produce de forma constante en muchos tejidos, es decir, no necesita ningún estímulo, mientras que la COX- 2 es estimulada por algún proceso inflamatorio (27).

La COX-1 tiene como objetivo proteger la mucosa gástrica, controlar el flujo sanguíneo renal, junto a funciones que intervienen en la homeostasis, respuesta inmune, pulmonar, SNC (sistema nervioso central), cardiovascular y reproductiva (28).

La COX-2 es producida por estimulación de una inflamación, sumado a diversos productos endógenos como citoquinas, endotoxinas y factores de crecimiento; originan prostaglandinas (28).

Los AINEs que inhiben selectivamente la COX-2, han sido desarrollados para reducir la inflamación y reducir el riesgo de un posterior daño gástrico. La COX-2 también se expresa en las células endoteliales, y si se inhibe la COX-2 se suprime la síntesis de prostaciclina; Esta supresión ocasiona un desequilibrio protrombótico-antitrombótico haciendo que los inhibidores de la COX-2 puedan ocasionar una enfermedad cardíaca (29).

II.6.5. Mecanismo de la nefrotoxicidad inducido por AINEs

La COX-1 es fundamental en la fisiología renal, gracias a varias prostaglandinas debido a que dilatan la vasculatura renal, disminuyendo la resistencia vascular e incrementando la perfusión renal. Esto ocasiona que se redistribuya el flujo renal de la corteza renal hacia las nefronas en la región intramedular. Gracias a esto se deduce que al inhibir la COX-1 se puede reducir la perfusión renal total y redistribuir el flujo renal a la corteza, lo cual desemboca en una vasoconstricción renal aguda, isquemia medular e insuficiencia renal aguda (30).

Los trastornos renales varían según la selectividad a las enzimas COX-1 y COX-2, las dosis que se usan y el tiempo de administración. La nefrotoxicidad por AINEs no ocurre frecuentemente en personas sanas, pero en el caso de adultos mayores o por interacción medicamentosa se puede desarrollar insuficiencia renal aguda (30).

II.6.6.

Manifestaciones clínicas de la reacción adversa de los AINEs

Tabla III. Reacciones adversas de los AINEs

Localización	Reacción
Esófago	Esofagitis
Estómago y duodeno	Síndrome dispéptico Lesiones mucosas petequias erosiones úlceras
Intestino delgado y colon	Trastornos de la motilidad Trastornos de la permeabilidad Estenosis y lesiones mucosas
Riñones	Insuficiencia renal Necrosis papilar Síndrome nefrótico Nefritis intersticial Fallo renal.
Pulmones	Asma Rinitis Anafilaxia.
Sangre	Hemorragias por interrupción de la función antiagregante de las plaquetas Neutropenia y otras citopenias por un fallo medular.
Arterias	Aparición de hipertensión arterial con posible infarto de miocardio junto con accidentes vasculares encefálicos
Sistema nervioso central	Cefaleas Pérdida de memoria Irritabilidad

Fuente: Navarro (2015)

Dentro de las manifestaciones clínicas de la gastropatía por AINEs, entre un 20 y un 30% de personas que ingieren AINEs desarrollan síntomas persistentes, y de éstos un 20% no presenta lesiones, un 50% tiene lesiones de poca relevancia (31).

La primera manifestación clínica es anemia ferropénica debido a una hemorragia digestiva crónica como aviso de una reacción adversa gastrointestinal. Cabe mencionar que aproximadamente un 30% de los pacientes reumáticos son ingresados a los hospitales para una valoración endoscópica por este motivo (31).

II.7. Corticoesteroides

Existen dos tipos de corticoesteroides naturales: glucocorticoesteroides y los mineralocorticoesteroides. Hay que destacar que el principal glucocorticoesteroide es el cortisol, mientras que la aldosterona es el mineralocorticoesteroide más importante (32).

Se sintetizan en la corteza suprarrenal a partir del colesterol, todos tienen el mismo esqueleto esteroideo, y simplemente se diferencian en los grupos que están unidos al carbono 17 o en la posición que adopta este grupo en el espacio (33).

Es grande la cantidad de derivados sintéticos, así como sus vías de administración y su potencia radica en los radicales que posean, entre los cuales están grupos amino, carboxilo y fosfatos. A su vez, la potencia también depende de la concentración del principio activo, el vehículo o excipiente que se use y el tipo de tejido (33).

Los esteroides tienen distintas potencias y la prueba que se usa con más frecuencia es el blanqueo cutáneo de Mc Kense. El vehículo en el que se mezcla el corticoide es otro factor que influye en la absorción percutánea (33).

La condición de la piel también es de importancia ya que una piel enferma no tiene la barrera como el estrato corneo normal, lo que hace que la penetración sea mayor en la piel sana. Otro factor a considerar es la hidratación de la piel (32).

II. 7.1. Corticoides de uso tópico

Los corticoides de uso tópico funcionan mediante mecanismos que afectan a la epidermis y la dermis, debiendo su eficacia clínica sobre todo a sus propiedades vaso constrictoras, efectos antiproliferativos y acciones inmunomoduladoras. En la piel se han identificado receptores específicos para corticoides, tanto en la epidermis humana como en los fibroblastos dérmicos con los que se correlaciona el efecto antiproliferativo. El efecto sobre las células en división en la capa basal de la epidermis es de gran importancia, sobre todo en las enfermedades con una rápida renovación celular como en la psoriasis (34).

II. 7.2. Mecanismo de acción

Ocurre principalmente por el metabolismo de ácido araquidónico, al disminuir la síntesis de prostaglandinas, endoperoxidasas y tromboxano, las cuales están involucradas en el proceso inflamatorio. Los corticoesteroides interactúan con proteínas que son receptoras específicas en tejidos diana, siendo encargados de regular la expresión de genes que poseen la capacidad de responder a corticoesteroides, modificando así la disposición de las proteínas sintetizadas por varios tejidos blanco (34).

Debido al tiempo necesario para que ocurran cambios en la expresión de genes y síntesis de proteínas, no es inmediata casi ninguna acción de los corticoesteroides. Esto es importante en clínica ya que regularmente existe un período de latencia de varias horas antes de que se presenten los efectos beneficiosos de los corticoesteroides (35).

Los corticoesteroides, tienen una acción fisiológica y farmacológica. La primera se refiere a las cantidades normales que se producen diariamente y sus efectos sobre el organismo, y la segunda se relaciona con los efectos que tienen en el organismo cuando la dosis excede a la producción diaria normal (34).

Las actividades que poseen los corticoesteroides involucradas en el organismo son las siguientes:

- Acción metabólica: intervienen en el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos.
- Acción sobre el equilibrio hidroelectrolítico.
- Acción sobre el sistema cardiovascular.
- Acción antiinflamatoria e inmunosupresora.
- Acción sobre la musculatura estriada.
- Acción sobre el sistema nervioso central.
- Acción sobre elementos formes de la sangre
- Acción sobre otras hormonas.

Hay que mencionar que también funcionan junto con otros reguladores hormonales potenciando su función y mientras modifican la capacidad de reacción de los tejidos (33).

II. 7.3. Efectos adversos de los corticoesteroides

En la actualidad hay la disponibilidad de esteroides más potentes y debido a esto, ha ido en aumento la frecuencia y el grado de efectos secundarios locales por el uso nuevos compuestos (32).

Las reacciones adversas locales se deben a la actividad anti proliferativa que poseen los corticoides sobre los queratinocitos y fibroblastos provocando una disminución en el grosor dérmico y epidérmico. Esta atrofia también puede afectar al tejido subcutáneo y ocurre con frecuencia luego de la administración de corticoides halogenados junto al uso de vendajes oclusivos (34).

Existen varios factores para que exista la presencia de efectos adversos (35) como:

- **La potencia del corticoide**

Mientras mayor sea la potencia, mayor será el riesgo de atrofia cutánea. Los nuevos corticoides que no son fluorados, tienen una actividad antiinflamatoria similar, poseen menos efectos secundarios.

- **La edad del paciente**

La piel del anciano es más susceptible a la aparición de telangiectasias, púrpura y atrofia. La piel de niños y adolescentes presenta con más frecuencia estrías de distensión.

- **La zona de aplicación**

Generalmente se presenta más a menudo secuelas por el uso de corticoides en la piel fina de pliegues, en la cara o genitales.

II.8 Betametasona

La betametasona y sus derivados, como el fosfato sódico de betametasona y el acetato de betametasona, son glucocorticoides sintéticos que son utilizados como agentes inmunosupresores y antiinflamatorios. Los derivados tópicos de este corticoide, el benzoato de betametasona, el dipropionato de betametasona y el valerato de betametasona se usan como antiinflamatorios, generalmente en el tratamiento de dermatosis (36).

II. 8.1. Mecanismo de acción

Inhiben la liberación de las hidrolasas ácidas de los leucocitos y previenen la acumulación de macrófagos en sitios infectados, interfiriendo con la adhesión leucocitaria en la pared capilar, permitiendo reducir la permeabilidad de la membrana de los capilares, provocando la reducción del edema. Además, la betametasona reduce la concentración de los componentes del complemento, inhibiendo la liberación de histamina y cininas, e interfiere con la formación de tejido fibroso (33).

La actividad antiinflamatoria de los corticoides es atribuida por los efectos sobre las lipocortinas, que son proteínas inhibidoras de la fosfolipasa A2. Las lipocortinas son las encargadas de controlar la síntesis de mediadores de la inflamación como son los leucotrienos y las prostaglandinas, inhibiendo la síntesis de su precursor, el ácido araquidónico (33).

En este trabajo se eligió realizar un estudio in vivo, que es parte del estudio preclínico que es realizado en distintos modelos fisiológicos en un laboratorio, para analizar propiedades físicoquímicas y comportamiento de un compuesto a investigar, en este caso, Smilax purhampuy R, para comprobar si existe una

actividad antiinflamatoria al igual que otras especies del mismo género.

II. 9. Estudios preclínicos

El uso de animales es de mucha utilidad en la ciencia porque permite conocer acerca de la vida, específicamente sobre los seres humanos, ya que se ha demostrado lo esencial que es el utilizar animales como objetos de prueba. Gracias a esta práctica se ha conseguido salvar vidas y contestar diferentes preguntas biomédicas.

En esta etapa, las moléculas extraídas se ensayan en dos o más especies de animales, ya que una droga puede afectar de forma distinta. Dichos estudios preclínicos evalúan varios parámetros de la molécula en estudio, como son la estabilidad, niveles plasmáticos, tisulares y propiedades farmacocinéticas (37).

En base a los resultados de esta etapa, se evalúa el desarrollo de formulaciones para estudios clínicos y se proponen evaluaciones farmacológicas más extensas. Estos estudios duran un promedio de 3 a 5 años para un compuesto exitoso, pero sólo 1 de 1.000 compuestos avanza a la siguiente etapa, que comprende a los estudios clínicos en seres humanos. Cuando los estudios preliminares muestran buenos resultados, el propietario generalmente solicita la patente del compuesto en estudio (37).

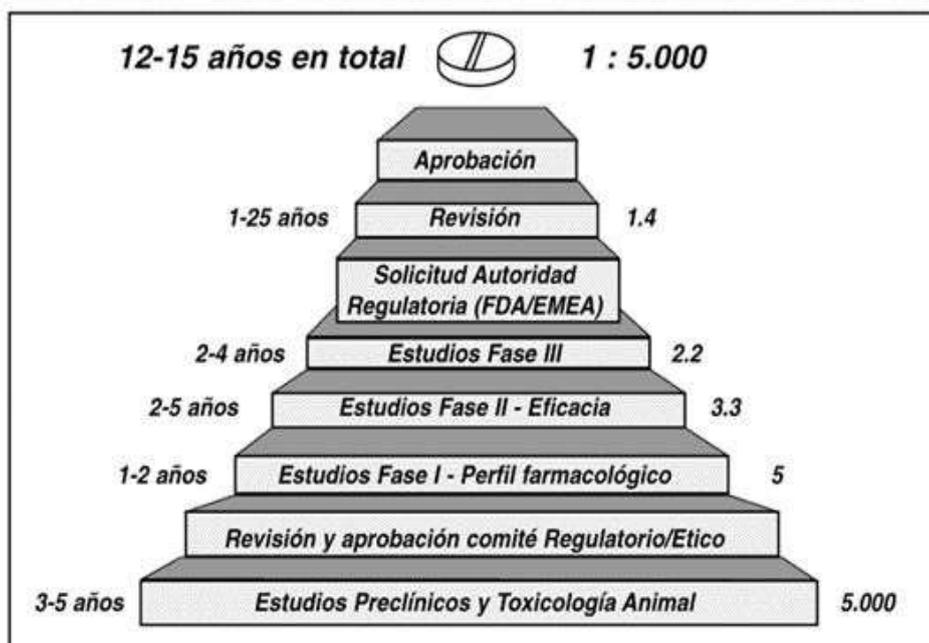


Figura 1. Estudios preclínicos

Fuente: Navarro (2015)

II. 9.1. Errores relacionados con la investigación preclínica

Se considera que hay varios retos para trasladar los resultados de la investigación con animales hacia los seres humanos para un entorno clínico y pueden existir errores en los mismos (38) como los que se menciona a continuación:

- Diferencias biológicas entre las cepas y especies.
- Mala calidad metodológica de los experimentos con animales.
- Diferencias en el diseño de estudios experimentales en animales y ensayos clínicos.
 - Notificación insuficiente de los detalles de los animales, métodos y materiales.
 - Sesgo de publicación.

II.10. Modelos experimentales antiinflamatorios

II.10.1. Modelos de evaluación in vivo

Para evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo hay disponibles varios modelos que varían en la intensidad de la reacción, como los siguientes:

- Modelos de inflamación aguda
- Modelos de inflamación subcrónica ó crónica

Para el estudio de agentes antiinflamatorios se pueden seleccionar agentes irritantes para conocer la forma de actuar de la sustancia objeto de estudio. Entre los agentes irritantes están la bradicinina, histamina y xileno, las cuales provocan una inflamación de origen neurogénico, mientras que el uso de fenilpropiolato de etilo ayuda en el estudio de agentes antiinflamatorios con periodos largos de latencia, como los corticosteroides (39).

Para los modelos de inflamación aguda existen distintos métodos, donde cada uno pose características especiales que dependen de las condiciones en las que se realice el estudio.

- Edema plantar por carragenina: el método por edema plantar por carragenina.

Winter and Porter lo describieron por primera vez en 1957 y ha sido de gran utilidad para discriminar los fármacos antiinflamatorios por su sencillez y reproducibilidad. Consiste en administrar por vía subcutánea a nivel de la aponeurosis plantar del ratón, una pseudo solución de carragenina. La sustancia a ensayar es posible administrarla por diferentes vías. La primera fase es mediada gracias a la liberación de histamina, serotonina y quininas, luego la segunda fase se asocia a la liberación de prostaglandinas, bradiquinina, proteasa y lisosoma (39).

- Edema en pabellón auricular inducido por aceite de Croton.

De los ésteres de forbol que son extraídos del aceite de Croton (*Croton tiglium* L.) el TPA es el más potente de todos. Generalmente se utiliza en la farmacología para provocar inflamación en las orejas de animales de laboratorio, inflamación que responde a distintos antiinflamatorios aplicados (39).

El modelo de edema auricular inducido por aceite de crotón, consta de una inflamación local o tópica usado para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de plantas ya que se ha establecido que los mediadores de mayor importancia involucrados en la formación del edema son: la histamina, serotonina y las prostaglandinas, resultado de una exacerbación del metabolismo del ácido araquidónico (AA) (40).

En este proceso se liberan mediadores eicosanoides lo que produce la degranulación de mastocitos y esto hace que los compuestos inhibidores de la liberación de prostaglandinas, leucotrienos o fármacos que son antagonistas de sus respectivos receptores, pueden mitigar el proceso inflamatorio que fue inducido. Es por esta razón, la sensibilidad que tienen inhibidores de COX y distintos procesos del metabolismo del AA frente a este modelo (40).

II.11. Histopatología

La Histopatología se refiere a la observación de la estructura, desarrollo y funciones de tejidos y células vivas normales y sanos. Además, tiene como objetivo identificar alteraciones estructurales y anormalidades proteicas o genéticas para corroborar el diagnóstico o causa de enfermedad o muerte (41).

El análisis histopatológico es de gran importancia, en los últimos años su valor en la patología quirúrgica es imprescindible. Su uso va desde la detección de agentes infecciosos hasta la tipificación de lesiones neoplásicas o de tejidos de un órgano (41).

Para la realización de este estudio el patólogo utiliza métodos de observación cuya elección varía dependiendo de qué característica se desee observar (41).



MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Tipo de Investigación

El método empleado en el trabajo de titulación es de carácter hipotético deductivo, ya que se planteó una hipótesis que señala la existencia de una actividad antiinflamatoria en el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. que a través de los resultados logrados nos permitirá aceptar o rechazar la misma.

Otro método empleado es experimental, dado que se evaluó la actividad del extracto in vivo con los animales de experimentación seleccionados, en los que se obtuvo diferentes respuestas a partir de los diversos tratamientos aplicados.

III.2. Equipos, Aparatos, Materiales y Reactivos

III.2.1. Equipos

Tabla IV. Equipos

Balanza analítica marca BOECO GERMANY
Balanza analítica SHIMADZU UW82005

Fuente: Autores

III.2.2. Aparatos

Tabla V. Aparatos

Hornilla eléctrica marca HCEB EM-1
Licadora marca OSTERIZER

Fuente: Autores

III.2.3. Materiales

Tabla VI. Materiales

Materiales	Descripción
Vaso de precipitación	500 ml
Espátula	Metálica
Agitador	Vidrio
Mortero y pistilo	Porcelana
Frasco	Vidrio color ámbar de 100 y 1000 ml
Probeta	Vidrio de 100 ml
Pipeta graduada	Vidrio de 10 ml
Embudo	Vidrio
Papel filtro	Blanco libre de cenizas
Papel de aluminio	6 metros
Frascos estériles	Polipropileno de 100 ml
Hisopos	Plástico con algodón, estériles
Micropipeta	De 5 a 1000 μ L.
Puntas desechables	Amarillas de 20 a 200 μ L.
Tijeras	Pequeñas para cutículas
Pinzas de precisión	Acero inoxidable

Fuente: Autores

III.2.4. Reactivos

Tabla VII. Reactivos

Agua destilada
Etanol 96%
Formol 37%

Fuente: Autores

III.3. Muestra

El objeto en estudio es el rizoma de la especie *Smilax purhampuy* R., que fue recolectado en la ciudad de Coca de la Provincia de Francisco de Orellana en la Región Amazónica de Ecuador.

La identificación de la especie vegetal se llevó a cabo en el Herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil como se muestra en el Anexo A.

III.4. Metodología Experimental

III.4.1. Diseño general de la metodología

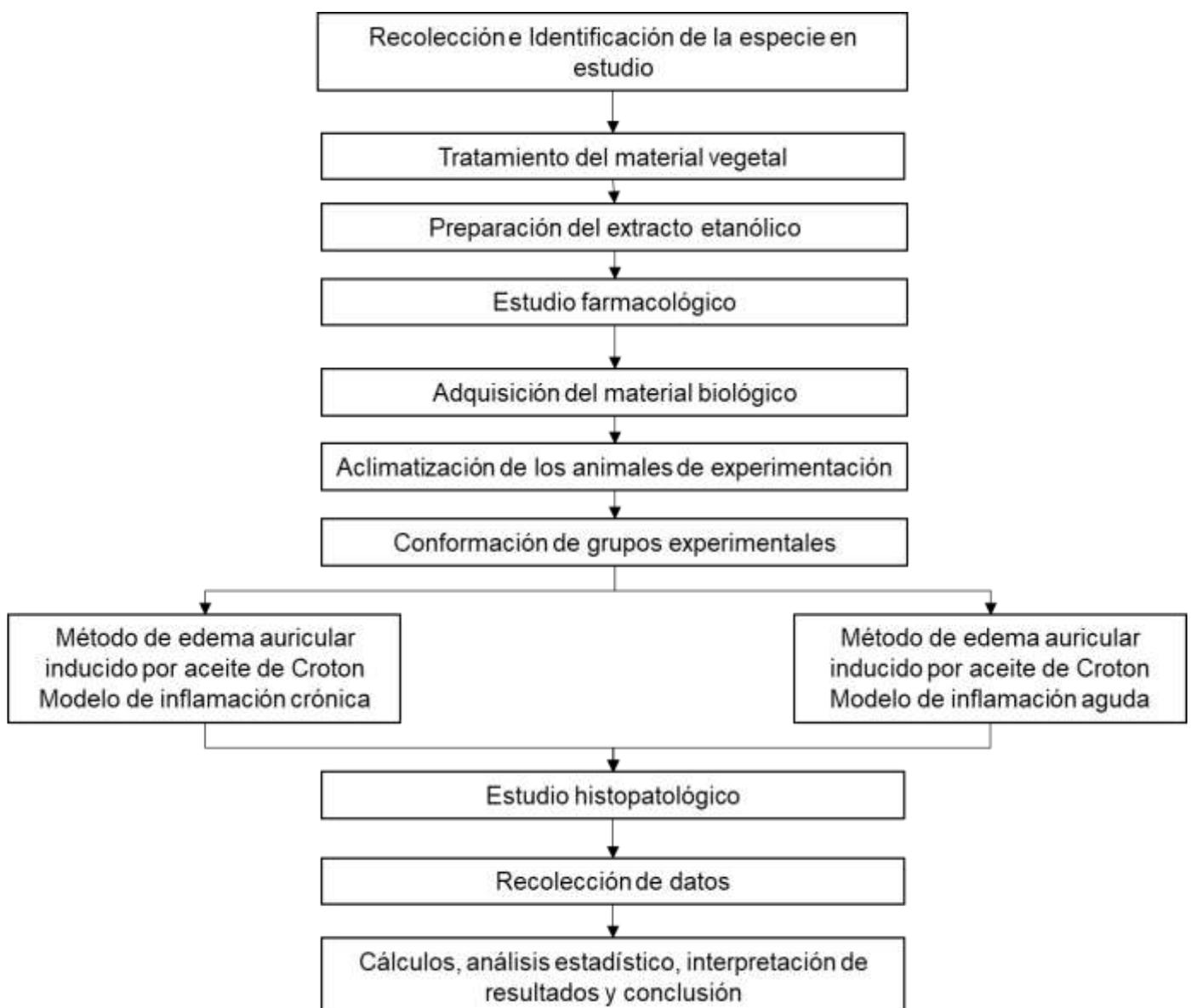


Figura 2. Diseño experimental

III.4.2. Obtención de extracto etanólico del rizoma Smilax purhampuy R.

-Tratamiento del material vegetal

Luego de la recolección de los rizomas, se procedió a lavarlos con abundante agua potable, cortarlos y finalmente secarlos en la estufa marca MEMMERT TV13U, en un tiempo de 48 horas a 50°C, lo que facilitó la trituración y molienda. El material vegetal seco fue almacenado en una funda ziploc para su uso posterior.

-Extracción etanólica

Este procedimiento se llevó a cabo en el Laboratorio de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, para ello se siguió la metodología descrita en el trabajo de Cosquillo et al. (42).

La extracción se realizó por maceración, donde se pesó 30 g del rizoma pulverizado en la balanza marca BOECO GERMANY (Anexo B), se colocaron 100 ml de etanol al 96%, y se dejó macerar por 15 días a temperatura ambiente. Se filtró con ayuda de papel filtro libre de cenizas, se midió el volumen de extracto obtenido y finalmente se llevó a sequedad en baño María para evaporar el etanol, como se muestra en el Anexo D.

III.4.3. Estudio farmacológico

-Material biológico

Se utilizaron 60 ratones machos Wistar de 4 semanas de edad, con un peso promedio de 20-25 g, suministrados por el Bioterio del Instituto de Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI). Los animales se mantuvieron en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad de Guayaquil.

-Condiciones de alojamiento de los animales

Durante el tiempo de aclimatización los animales fueron mantenidos en gavetas plásticas con tapa de malla metálica, la cual soporta los bebederos y el alimento. Las condiciones ambientales fueron una temperatura controlada de 22°C ± 3°C y una humedad relativa 70% ± 5%, con períodos de luz-oscuridad de 12 h.

Además, para la realización del ensayo se usaron jaulas con el fin de brindar seguridad y comodidad a los animales, las jaulas fueron codificadas con el grupo de tratamiento correspondiente, actividad a evaluar, fecha de inicio y finalización del ensayo, número y sexo del animal.

-Conformación de grupos experimentales

Se organizaron cinco grupos con seis ratones Wistar cada uno, los cuales fueron pesados en una balanza marca SHIMADZU, registrando sus pesos como se muestra en los Anexos G y H. Se aplicaron distintos tratamientos, los cuales están descritos en la Tabla VIII.

Tabla VIII. Grupos trabajados en la valoración de la actividad antiinflamatoria crónica y aguda

Grupos	Tratamiento	Volumen aplicado	Concentración
A. Control negativo	Aceite de croton	40 µl	2%
B. Control positivo	Aceite de croton	40 µl	2%
	Betametasona dipropionato	n/a	0,05%
C. Tratamiento 1	Aceite de croton	40 µl	2%
	Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R.	10 µl	0.05 mg
D. Tratamiento 2	Aceite de croton	40 µl	2%
	Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R.	20 µl	0.1 mg
E. Tratamiento 3	Aceite de croton	40 µl	2%
	Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R.	40 µl	0.2 mg

Nota: µl= microlitro

Fuente: Autores

- Determinación de la actividad antiinflamatoria

El método que se utilizará para determinar la actividad antiinflamatoria se encuentra descrito en un estudio realizado por Regalado et al. (39), donde se produjo un edema en el pabellón auricular inducido por aceite de Croton.

Del aceite de Croton (*Croton tiglium* L.) se extraen ésteres, de los cuales el TPA (12 - O -tetradecanoilforbol-13-acetato) es el más potente. Este compuesto tiene propiedades irritantes que promueven la inflamación, cuando se aplica TPA induce el proceso inflamatorio común: vasodilatación y eritema, extravasación y edema. Desde la perspectiva histológica ocurre agregación plaquetaria, agregación y adherencia de polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), migración a la dermis y degranulación de mastocitos. La respuesta vascular máxima ocurre entre 5 y 6 horas después de la aplicación del aceite de croton y coincide con la fase mediada de las prostaglandinas (39).

El ensayo crónico tuvo una duración de 5 días y el ensayo agudo de 1 día, en ambos se aplicó por vía tópica los distintos tratamientos en cada cara de la oreja izquierda, mientras que la derecha sirvió como control.

A los grupos conformados se les asignó codificación: A, B, C, D, E. Al grupo B, control positivo, se le colocó con ayuda de un hisopo estéril el fármaco Betametasona dipropionato 0,05% y a los grupos C, D, E se les aplicó el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. a distintas concentraciones: 40 µl, 20 µl y 10 µl, respectivamente. Luego de 30 min, a todos los grupos de ratones (A, B, C, D, E), se les aplicó 40 µl de la solución de aceite de Croton en la misma oreja izquierda (43) (Anexo J).

Para el ensayo crónico, este proceso se repitió por cuatro días y en el día quinto luego de 6 horas posteriores a la aplicación del aceite de croton, se midió con un vernier el diámetro de las orejas inflamadas y no inflamadas, y se procedió al sacrificio de todos los animales por dislocación cervical. Mientras que para el ensayo agudo todo el proceso fue realizado en 1 día.

Luego, con el uso de un sacabocado se realizó un corte en cada una de las orejas de los ratones, donde se obtuvieron porciones circulares de aproximadamente 6 mm de diámetro, se pesaron ambos discos de las orejas, tanto la inflamada como la no inflamada (Anexo L). Los pesos obtenidos sirvieron

para determinar la actividad antiinflamatoria mediante el porcentaje de inflamación y de inhibición (43).

De acuerdo con el trabajo realizado por Regalado et al (39) se usó la siguiente fórmula para calcular la diferencia de peso entre la oreja derecha e izquierda, cuyo resultado se tomó como la expresión del edema:

$$\Delta \text{ peso (mg)} = \text{Peso de la oreja inflamada} - \text{Peso de la oreja no inflamada}$$

Para realizar los cálculos del porcentaje de inflamación y de inhibición se usaron las fórmulas aplicadas en el estudio de Díaz et al. (44), las cuales se indican a continuación:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{T \times 100}{ST} - 100$$

Donde:

T= Promedio de los pesos de las orejas tratadas (izquierda).

ST= Promedio de los pesos de las orejas sin tratar (derecha)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

T= Porcentaje de inflamación del grupo tratado.

C= Porcentaje de inflamación del grupo control.

III.4.4. Histopatología

Una vez fijadas las muestras en formol, fueron lavadas en agua para eliminar el exceso de fijador. A continuación, se realizó la fijación de las muestras durante 1 minuto en metanol, y finalmente teñidas con Hematoxilina-Eosina (15 y 5 min respectivamente). Luego, los cortes fueron deshidratados con alcohol etílico en concentración ascendente (50°, 70°, 90°, etanol absoluto), finalizando con xilol-etanol (3 min) y xilol (5 min). Las muestras fueron montadas en un medio

resinoso y evaluadas con un microscopio óptico marca Leica. Se realizaron diversas fotografías de las muestras histológicas, las que fueron digitalizadas mediante el uso de una cámara Canon (PowerShot A810) y un microscopio marca Leica a un aumento final de 100X (45).

III.4.5. Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó mediante el programa Microstap. Los datos se expresaron \pm desviación estándar de la media, y se analizaron para determinar si existen diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, se realizó el análisis de varianza con una significación de $p < 0,05$.

IV.1. Determinación de la actividad antiinflamatoria

Los resultados del espesor y peso de las orejas luego de utilizar el modelo in vivo de inflamación crónica y aguda de la oreja inducido por aceite de Croton, se muestran a continuación.

IV.2.1. Espesor y peso de las orejas del modelo de inflamación crónica y aguda

-Modelo de inflamación crónica

Tabla IX. Promedio de la diferencia del espesor de las orejas de los animales en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. Modelo inflamación crónica.

Diferencia del espesor de las orejas (Inflamada-No inflamada)	Grupos				
	A Control negativo (Aceite de Croton)	B Control positivo (Betametasona dipropionato 0,05%)	C Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (10 µl)	D Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (20 µl)	E Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (40 µl)
Espesor (cm)	0,57	0,09	0,19	0,15	0,12
Desviación estándar	0,38 A	0,03 B	0,12 B	0,04 B	0,08 B

Nota. Letras iguales no presentan diferencias significativas. Nivel de significancia: $P < 0,05$.

Fuente: Autores

Según la Tabla IX se puede observar que el grupo control negativo, al que sólo se le aplicó aceite de Croton, presentó una diferencia de espesor de las orejas de $0,57 \pm 0,38$; el grupo control positivo $0,09 \pm 0,03$; el grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. presentó un espesor de $0,19 \pm 0,12$; mientras que para el grupo que recibió 20 µl fue de $0,15 \pm 0,08$; y el grupo tratado con 40 µl de $0,12 \pm 0,08$.

De acuerdo al análisis estadístico de los datos se pudo establecer que el grupo control negativo presentó mayor diferencia de espesor en comparación a

los otros grupos. El grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico presentó menor proporción en relación a la magnitud presentada en el grupo control negativo seguido del grupo tratado con 20 µl. El grupo tratado con 40 µl presentó medidas de espesor cercanas al grupo control positivo (betametasona).

Tabla X. Promedio de la diferencia del peso de las orejas de los animales en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. Modelo inflamación crónica.

Diferencia del peso de las orejas (Inflamada-No inflamada)	Grupos				
	A Control negativo (Aceite de Croton)	B Control positivo (Betametasona dipropionato 0,05%)	C Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (10 µl)	D Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (20 µl)	E Extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. (40 µl)
Peso (mg)	8,60	2,88	6,75	5,75	5,23
Desviación estándar	3,78 A	1,84 C	2,29 AB	1,75 ABC	2,15 BC

Nota. Letras iguales no presentan diferencias significativas. Nivel de significancia: P<0,05.

Fuente: Autores

En la Tabla X se muestra la diferencia del peso de las orejas, donde el grupo control negativo presentó un peso de $8,60 \pm 3,78$; el grupo control positivo de $2,88 \pm 1,84$; el grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. mostró una diferencia de peso de $6,75 \pm 2,29$; el grupo que recibió 20 µl presentó $5,75 \pm 1,75$; y el grupo tratado con 40 µl exhibió un peso de $5,23 \pm 2,15$.

Se reporta que el grupo control negativo presenta diferencias significativas con el resto de grupos tratados. El grupo que fue tratado con 10 µl del extracto etanólico presentó menor peso que el grupo control negativo. El grupo tratado con 40 µl presentó un peso aproximado al tratado con 20 µl, seguido del grupo control positivo (betametasona) quien presentó el menor peso.

- Modelo de inflamación aguda

Tabla XI. Promedio de la diferencia del espesor de las orejas de los animales en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. Modelo inflamación aguda.

Diferencia del espesor de las orejas (Inflamada-No inflamada)	Grupos				
	A Control negativo (Aceite de Croton)	B Control positivo (Betametasona dipropionato 0,05%)	C Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (10 µl)	D Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (20 µl)	E Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (40 µl)
Espesor (cm)	0,62	0,15	0,17	0,07	0,04
Desviación estándar	0,06 A	0,12 BC	0,11 B	0,02 CD	0,02 D

Nota. Letras iguales no presentan diferencias significativas. Nivel de significancia: $P < 0,05$.

Fuente: Autores

En la Tabla XI se puede observar que el grupo control negativo presentó un espesor de $0,62 \pm 0,06$; el grupo control positivo $0,15 \pm 0,12$; el grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. mostró una diferencia de espesor de $0,17 \pm 0,11$. Por otro lado, el grupo que recibió 20 µl evidenció un espesor de $0,07 \pm 0,02$; y el grupo tratado con 40 µl $0,04 \pm 0,02$.

Según los resultados estadísticos, se puede establecer que el grupo control negativo presentó una tendencia mayor en cuanto a las dimensiones tomadas. El grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. presentó menor proporción en relación a la magnitud presentada en el grupo control negativo; el control positivo (betametasona) presentó menor medida de espesor seguidas del grupo tratado con 20 µl. El que presentó menor dimensión fue el grupo tratado con 40 µl, inclusive presentando valores muy por debajo al del control positivo.

Tabla XII. Promedio de la diferencia del peso de las orejas de los animales en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. Modelo inflamación aguda.

Diferencia del peso de las orejas (Inflamada-No inflamada)	Grupos				
	A Control negativo (Aceite de Croton)	B Control positivo (Betametasona dipropionato 0,05%)	C Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (10 µl)	D Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (20 µl)	E Extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy</i> R. (40 µl)
Peso (mg)	5,90	1,55	3,22	2,35	2,32
Desviación estándar	1,22 A	1,36 C	1,06 B	0,53 BC	0,86 BC

Nota. Letras iguales no presentan diferencias significativas. Nivel de significancia: $P < 0,05$.

Fuente: Autores

De acuerdo a la Tabla XII el grupo control negativo presentó una diferencia de peso de las orejas de $5,90 \pm 1,22$; el grupo control positivo $1,55 \pm 1,36$; el grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. $3,22 \pm 1,06$. Mientras que el grupo que recibió 20 µl mostró un peso de $2,35 \pm 0,53$; y el grupo tratado con 40 µl de $2,32 \pm 0,86$.

A partir del análisis estadístico, se demuestra diferencias significativas del grupo control negativo en relación con los otros grupos. El grupo tratado con 10 µl del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. presentó mayor peso en relación al grupo tratado con 20 µl, este último estuvo muy próximo al grupo tratado con 40 µl. El que presentó menor diferencia de peso fue el grupo control positivo (betametasona).

Los resultados del porcentaje de inflamación y de inhibición del modelo in vivo de inflamación crónica y aguda de edema de la oreja inducido por aceite de Croton, se muestran a continuación.

IV.2.2. Porcentaje de inflamación e inhibición del modelo de inflamación crónica y aguda

- Modelo de inflamación crónica

- Porcentaje de inflamación

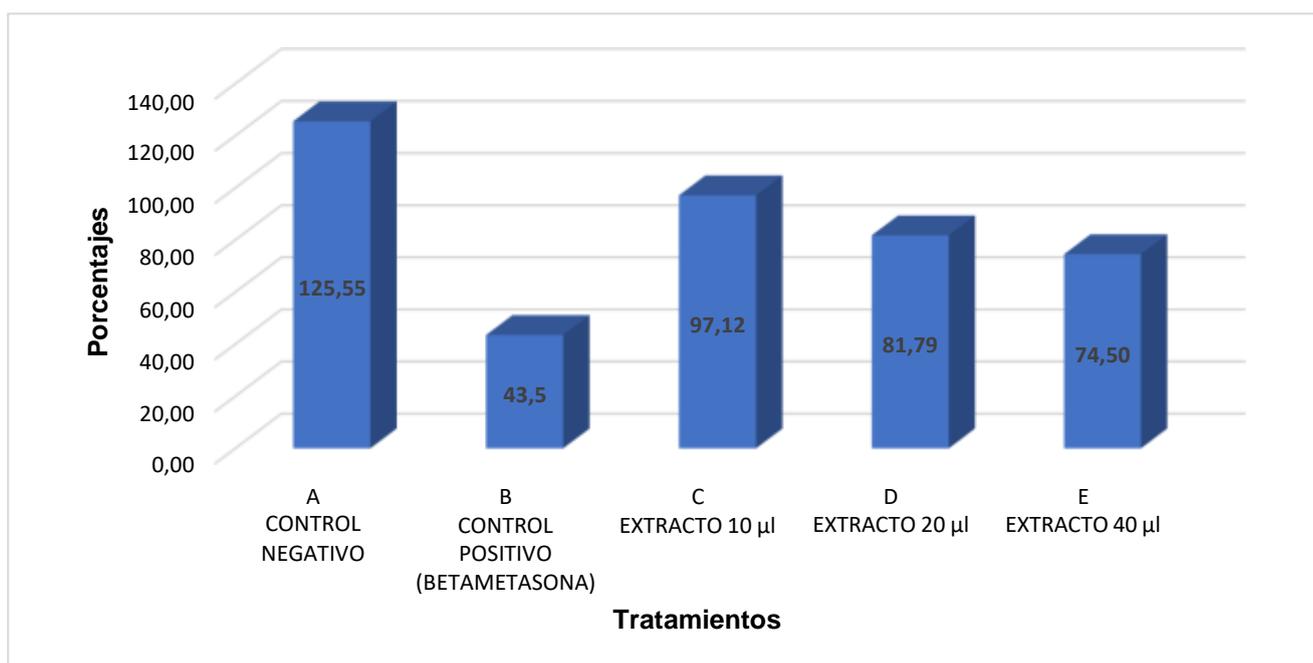


Figura 3. Porcentaje de inflamación del modelo de inflamación crónica

Fuente: Autores

Los resultados obtenidos en el modelo de inflamación crónica de edema auricular inducido por aceite de Croton mostraron los siguientes porcentajes de inflamación: 125,55% para el grupo control negativo, el extracto etanólico de 10 µl del rizoma de Smilax purhampuy R. presentó un 97,12% de inflamación, el extracto etanólico de 20 µl obtuvo un 81,79%, mientras que el extracto etanólico de 40 µl mostró un 74,50% de inflamación, seguido del grupo positivo tratado con betametasona con un 43,5%.

- **Porcentaje de inhibición**

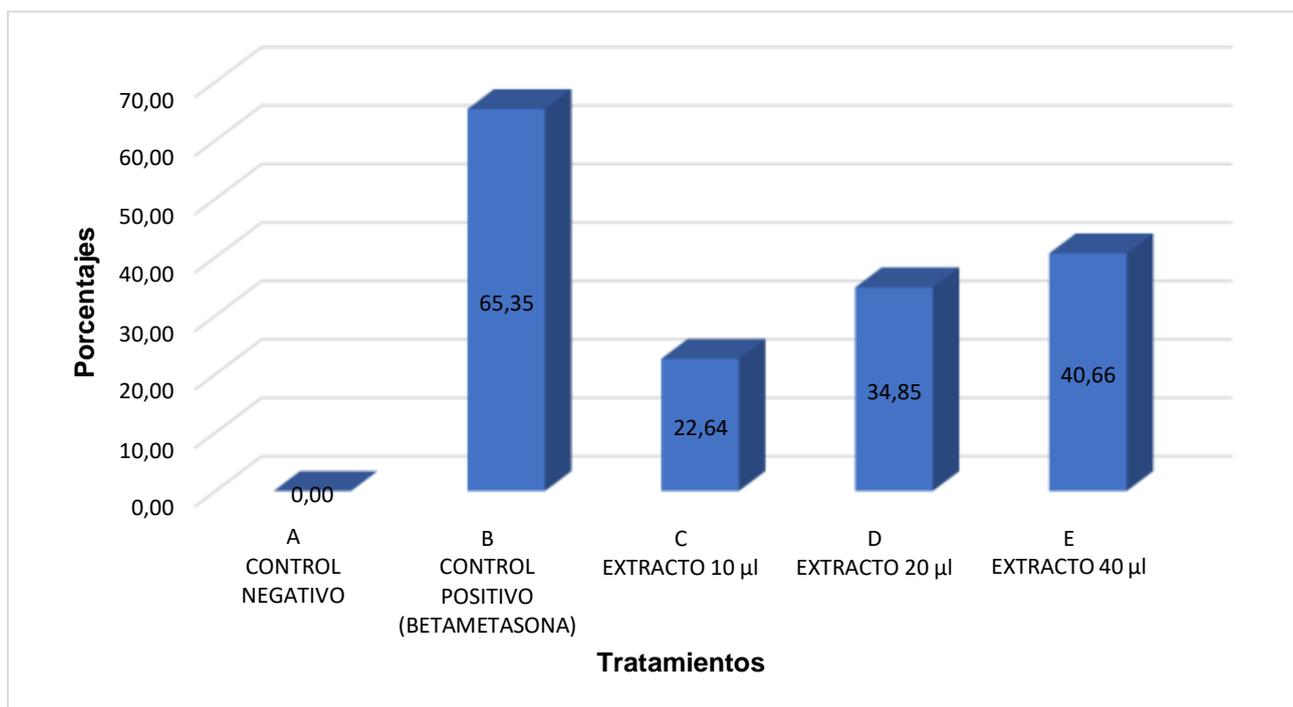


Figura 4. Porcentaje de inhibición del modelo de inflamación crónica

Fuente: Autores

Los resultados obtenidos con respecto al porcentaje de inhibición, mediante el modelo de inflamación crónica de edema auricular inducido por aceite de Croton, fueron los siguientes: el grupo control positivo (betametasona) fue quien obtuvo el mayor porcentaje de inhibición, con un 65,35%, a continuación, se encontró el extracto etanólico de 40 µl del rizoma de Smilax purhampuy R. con un 40,66%, seguido del extracto etanólico de 20 µl quien obtuvo un 34,85% y por último el extracto etanólico de 10 µl que presentó un 22,64%.

- Modelo de inflamación aguda

- Porcentaje de inflamación

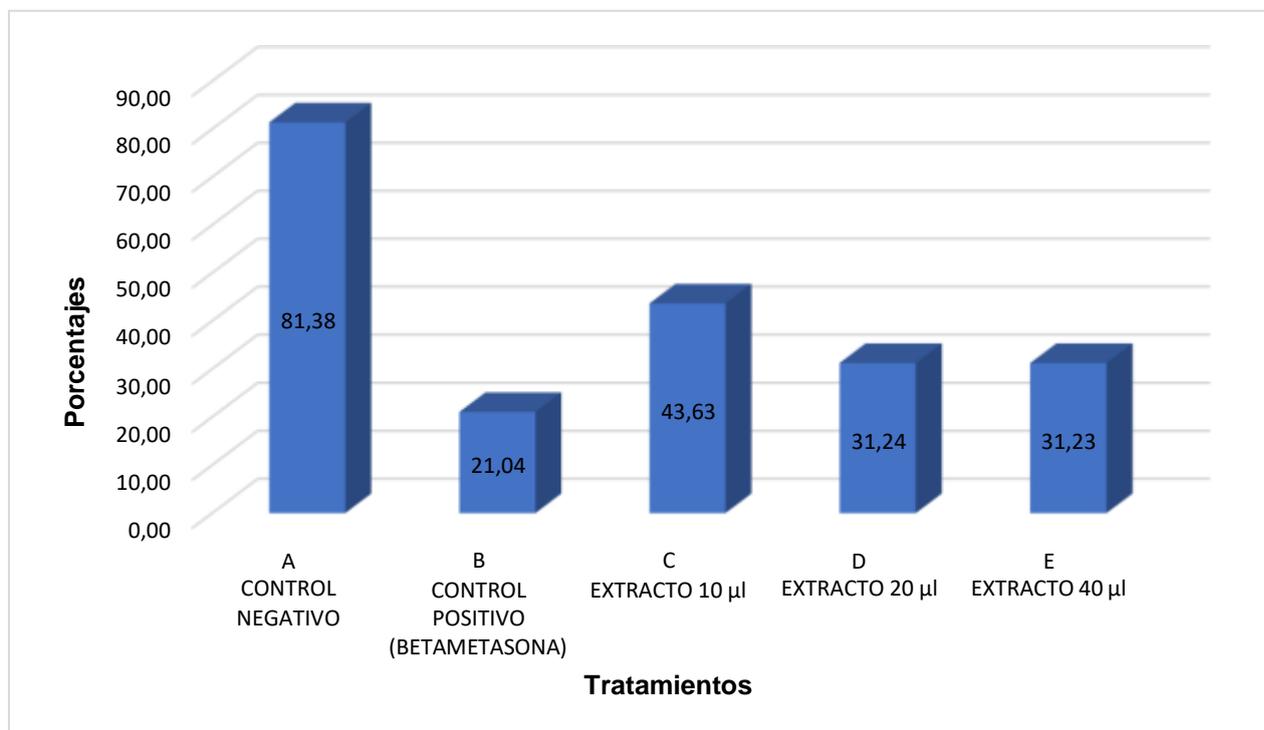


Figura 5. Porcentaje de inflamación del modelo de inflamación aguda

Fuente: Autores

Los resultados que se obtuvieron con respecto al porcentaje de inflamación mediante el modelo agudo de edema auricular inducido por aceite de Croton fueron los siguientes: el grupo control negativo tuvo 81,38% de inflamación, el extracto etanólico de 10 µl del rizoma de Smilax purhampuy R. presentó un 43,63% de inflamación, el extracto etanólico de 20 µl obtuvo un 31,24% y estuvo muy cercano al de 40 µl quien mostró un 31,23% de inflamación, seguido del grupo control positivo tratado con betametasona con 21,04%.

- **Porcentaje de inhibición**

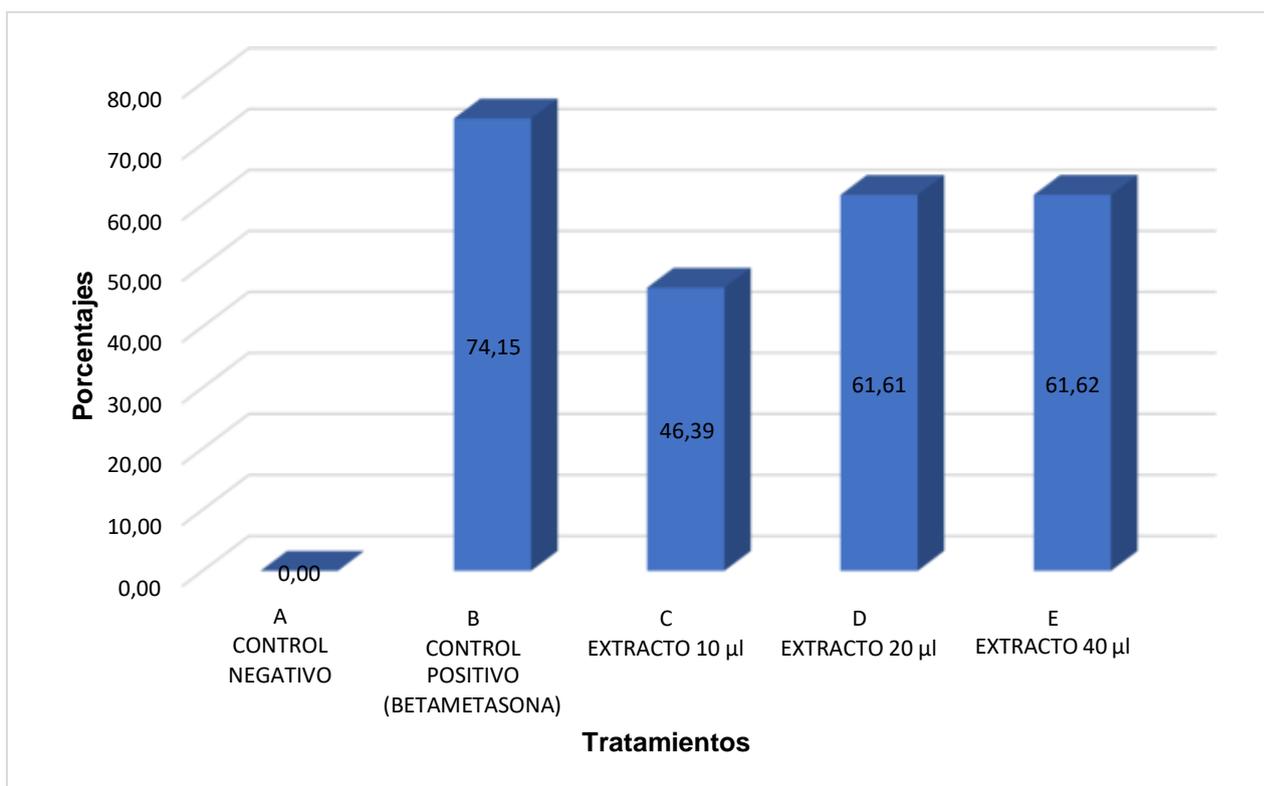


Figura 6. Porcentaje de inhibición del modelo de inflamación aguda

Fuente: Autores

Los resultados de inhibición de la inflamación, mediante el modelo de inflamación aguda de edema auricular inducido por aceite de Croton fueron los siguientes: el grupo tratado con betametasona obtuvo el mayor porcentaje de inhibición, con un 74,15%, aproximándose los grupos tratados con 40 y 20 µl del extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R., quienes presentaron 61,62 y 61,61% respectivamente; y por último se encontró el extracto etanólico de 10 µl con un 46,39%.

IV.2. Análisis histológico

El análisis histológico presentó marcadas diferencias en la evaluación de los distintos tratamientos, tanto en el modelo de inflamación crónica como en la aguda.

- Modelo de inflamación crónica

Grupo Control Negativo: El proceso inflamatorio perifolicular e intradérmico es notable en todos los segmentos (+++).

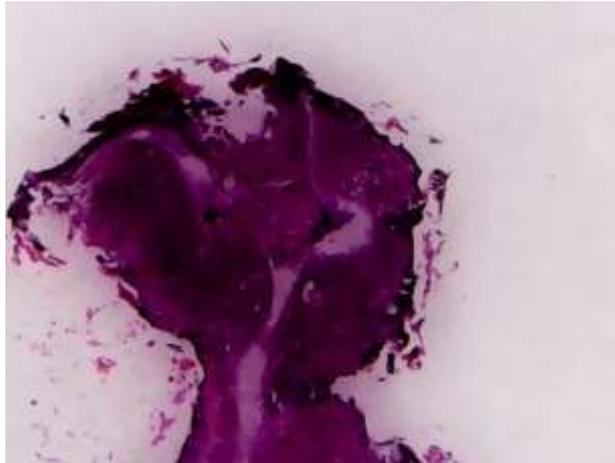


Figura 7. Análisis histológico del grupo control negativo- modelo de inflamación crónica.
Fuente: Autores

Grupo Control positivo (Betametasona): Todos los segmentos presentan un discreto grado de infiltración de células inflamatorias perifoliculares y en la epidermis profunda (+).

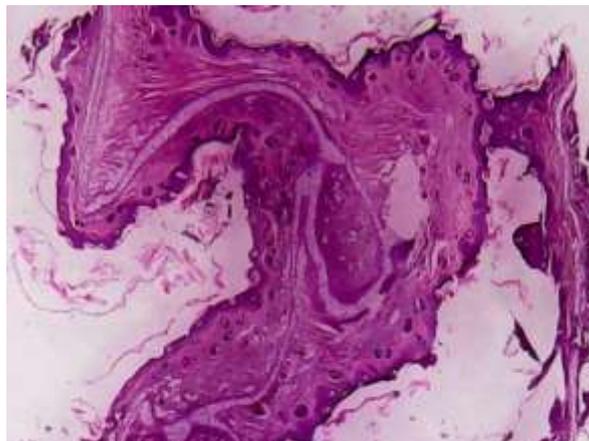


Figura 8. Análisis histológico del grupo control positivo- modelo de inflamación crónica.

Fuente: Autores

Grupo 10 µl de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: La presencia de infiltrados de células inflamatorias (linfocitos y monocitos) es evidente de manera difusa en la zona profunda de la epidermis y peri folicular (++) , además existen espacios parecidos a micro abscesos en la zona epidérmica.

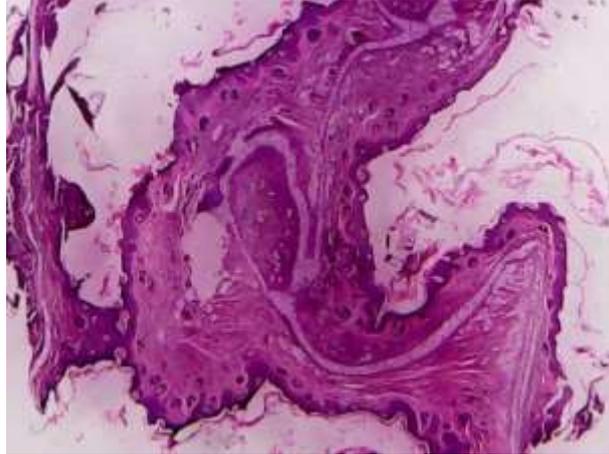


Figura 9. Análisis histológico del grupo tratado con 10 µl de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. - modelo de inflamación crónica.

Fuente: Autores

Grupo 20 µl de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: En todos los segmentos el proceso inflamatorio es leve (+), sin embargo, en un segmento la presencia de tejido granular inflamatorio es evidente en la zona subdérmica (+++).

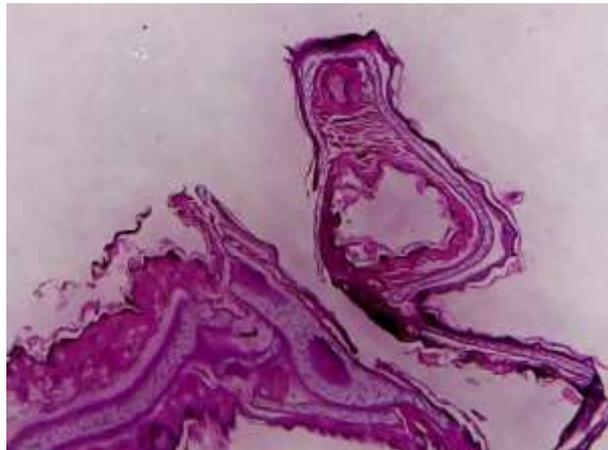


Figura 10. Análisis histológico del grupo tratado con 20 µl de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. – modelo de inflamación crónica.

Fuente: Autores

Grupo 40 µl de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: En varios segmentos los infiltrados de células inflamatorias (linfocitos y macrófagos) es leve, pero en un segmento la presencia de tejido granular inflamatorio (+).

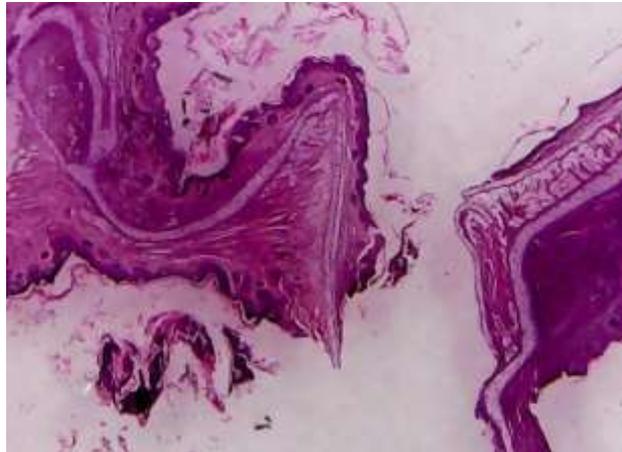


Figura 11. Análisis histológico del grupo tratado con 40 de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R. - modelo de inflamación crónica.

Fuente: Autores

Corresponde analizar que en este grupo posiblemente por el tiempo de exposición al producto, las reacciones de los tejidos son mucho más evidentes.

- Modelo de inflamación aguda

Grupo Control Negativo: El proceso inflamatorio perifolicular e intradérmico es notable en todos los segmentos (++), salvo en uno que el grado de infiltración de células inflamatorias es menor (+).

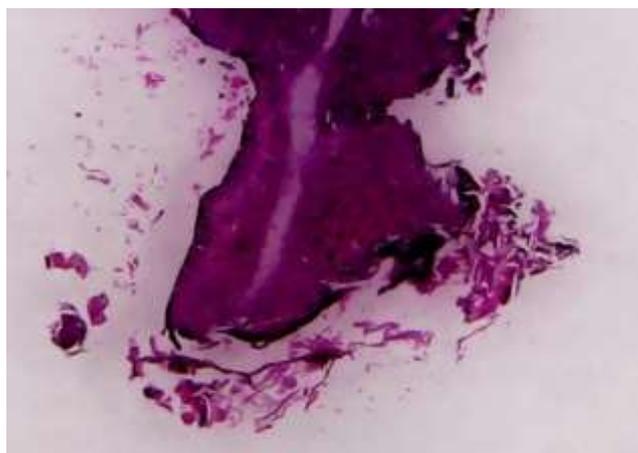


Figura 12. Análisis histológico del grupo control negativo - modelo de inflamación aguda.

Fuente: Autores

Grupo Control positivo (Betametasona): Un segmento presenta discreta infiltración de células inflamatorias (Linfocitos) en la zona profunda de la epidermis (+), el resto de segmentos no presentan alteraciones.

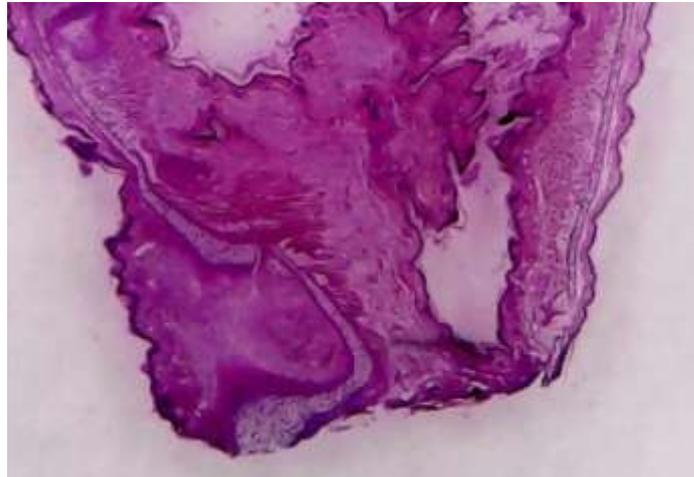


Figura 13. Análisis histológico del grupo control positivo- modelo de inflamación aguda.

Fuente: Autores

Grupo 10 μ l de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: Dos segmentos presentan infiltrados de células inflamatorias (+) en la zona profunda folicular (+), el resto de órganos están normales.

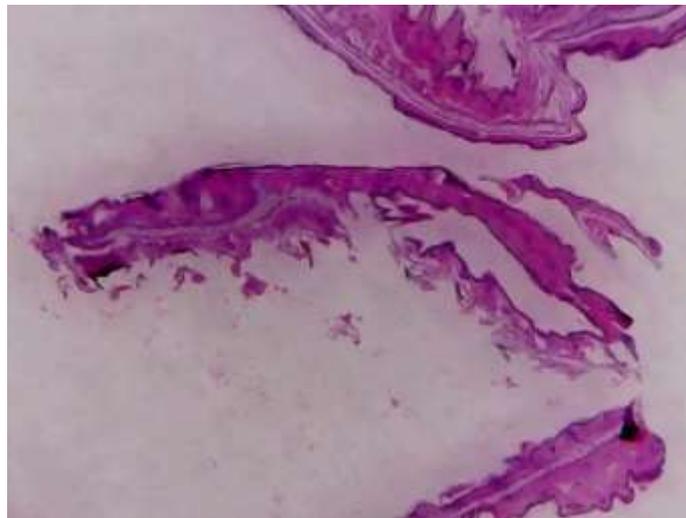


Figura 14. Análisis histológico del grupo tratado con 10 μ l del extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R.- modelo de inflamación aguda.

Fuente: Autores

Grupo 20 μ l de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: Un segmento presenta leve proceso inflamatorio en la zona subepidérmica profunda (+), el resto de segmentos están normales.

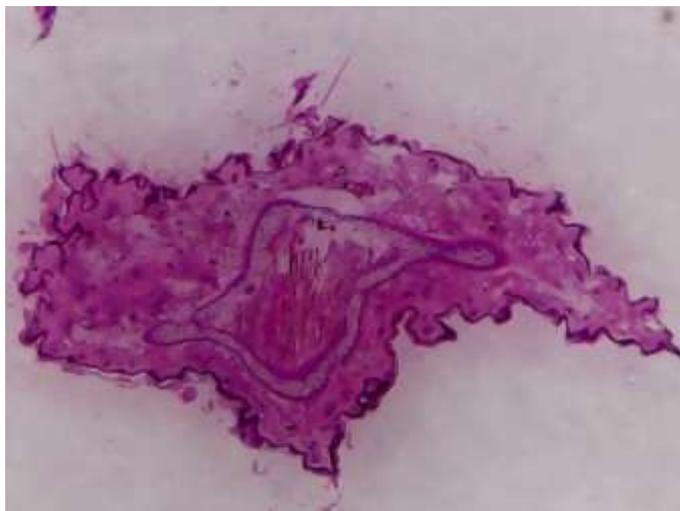


Figura 15. Análisis histológico del grupo tratado con 20 μ l de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R - modelo de inflamación aguda.

Fuente: Autores

Grupo 40 μ l de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R: Un segmento presenta discreta infiltración de células inflamatorias (linfocitos) en la zona folicular profunda (+), el resto de segmentos no presentan alteraciones.

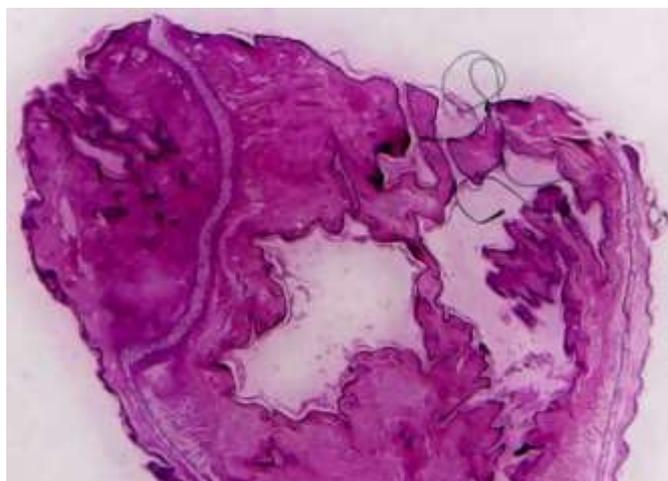


Figura 16. Análisis histológico del grupo tratado con 40 μ l de extracto etanólico del rizoma de Smilax purhampuy R - modelo de inflamación aguda.

Fuente: Autores

Como se puede observar los grupos experimentales 10 μ l, 20 y 40 μ l no presentan alteraciones relevantes posiblemente por el tiempo de exposición al producto.

IV.3. Discusión de resultados

La respuesta inflamatoria es una medida de protección frente a agresiones, caracterizada por vasodilatación, exudación de un fluido rico en proteínas, prostaglandinas, histaminas, citoquinas; y migración celular, causando influjo celular y extravasación en el lugar del daño; pero una respuesta descontrolada del organismo, puede generar diversos síntomas dolorosos (25).

El uso de los compuestos bioactivos derivados de plantas, representa una alternativa cada vez más explorada para el futuro tratamiento de numerosos desórdenes inflamatorios, y así disminuir el consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), debido a que estos presentan efectos secundarios dañinos para el tejido (46).

A nivel mundial, las especies del género *Smilax* se utilizan en la medicina popular por sus propiedades antiinflamatorias, encontrándose reportes que validan este uso, sin embargo, no se ha explorado a la especie *Smilax purhampuy R.* como antiinflamatorio. Siendo esta la primera evaluación in vivo con evaluación histológica que se realiza a los rizomas de *Smilax purhampuy R.*

El método de edema auricular inducido por aceite de *Croton*, un agente flogógeno, se lo usó tanto para el modelo de inflamación crónica y aguda. Este modelo tiene ventaja con el estudio de productos naturales, porque utiliza pequeña cantidad de muestra y sólo involucra respuesta local de la piel de la oreja, evitando interferencias con la excreción y metabolismo del componente bioactivo (39).

Según la relación de la diferencia del espesor y el peso de las orejas en el modelo de inflamación crónica, el grupo tratado con 40 µl del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* presentó una reducción significativa en la formación del edema, luego del tratado con betametasona.

Es conocido que el granuloma inflamatorio es una respuesta típica de un proceso inflamatorio crónico y ha sido establecido que el peso está relacionado con el tejido granulomatoso. La eficacia de los AINEs está dada por su capacidad de inhibir el incremento de células polimornucleares durante la formación del tejido granular (25).

Respecto a la reducción del espesor de las orejas en el modelo de inflamación aguda, el extracto etanólico de 20 y 40 μ l del rizoma de *Smilax purhampuy* R. presentaron menores dimensiones que el grupo de la betametasona, pero mayor peso que este. Esto indicaría que componentes de *Smilax purhampuy* R. pueden estar involucrados en la inhibición de la liberación de agentes pro- inflamatorios, responsables de la formación del exudado.

Los resultados obtenidos en los ensayos in vivo indican que hubo inhibición inflamatoria crónica y aguda, en las distintas concentraciones del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. administradas tópicamente en las orejas de los ratones.

El extracto etanólico trabajado a 40 μ l presentó actividad antiinflamatoria, seguido del de 20 μ l. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con relación al grupo control negativo, el grupo tratado con crema betametasona presentó la mayor actividad antiinflamatoria, tanto en la inducción de inflamación crónica y aguda.

Además, nuestros resultados de la evaluación histológica nos permitieron observar los cambios en el tejido, pudiendo determinar que el tratamiento con el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. permite el mantenimiento de la integridad del epitelio, presentando un leve proceso inflamatorio, disminuyendo la vasodilatación y el edema en el tejido conectivo, además de reducir la respuesta inflamatoria del tejido. Por lo tanto, los tratamientos fueron efectivos, sin embargo, el grupo tratado con betametasona presenta mayor organización del tejido, ausencia de edema y pocas células inflamatorias.

La inflamación que ocurre por la aplicación del TPA (12 - O - tetradecanoilforbol-13-acetato), éster del aceite de Croton, se debe a la activación de la proteína cinasa C, además se relaciona con la liberación de serotonina, histamina y derivados del ácido araquidónico. Los fármacos antiinflamatorios, especialmente los que inhiben la ciclooxigenasa (COX) y la lipoxigenasa (LOX), son capaces de reducir la respuesta edematosa (46), por lo que se cree posible que el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. actúe también a nivel de estas enzimas.

Estos resultados concuerdan con la bibliografía revisada en este trabajo de investigación y con estudios realizados en distintas especies del género *Smilax*. Así se puede apreciar en el trabajo realizado por Hirota et al. (12) donde investigaban la actividad antiinflamatoria de *Smilax larvata* y se obtuvo una actividad antiinflamatoria con una dosis de 100mg/Kg.

Otro trabajo donde se comprobó que hay actividad antiinflamatoria en las especies del género *Smilax* es en el de Khan et al. (2) quienes realizaron un estudio del extracto metanólico de *Smilax ornata* en donde reportaron que la concentración de 400 mg/kg presentó el efecto antiinflamatorio en ratones.

En la evaluación antiinflamatoria de la especie *Smilax canariensis* realizada por Dévora et al. (47) indican que hubo inhibición inflamatoria en la pata de los ratones al usar concentraciones de extracto de 100 y 200 mg/kg.

En todos los estudios realizados se reportaron que las especies del género *Smilax* poseen efectos antiinflamatorios, sin embargo, ninguno superó el porcentaje de inhibición inflamatoria de los controles positivos.

Este trabajo se suma a los distintos estudios que evidencian la actividad antiinflamatoria del género *Smilax*, se les atribuye la actividad a los metabolitos presentes en el extracto que han sido reportados como agentes antiinflamatorios: polifenoles, saponinas, cumarinas y flavonoides, estos últimos son moléculas caracterizadas por su acción antioxidante y por participar en procesos fisiopatológicos inflamatorios, ya que tienen la habilidad de actuar contra la histaminas y prostaglandinas, además interaccionan con enzimas responsables del metabolismo del ácido araquidónico, inhibiendo alguna de las oxidasas responsables de su metabolización, como COX- 2, implicada en la agregación plaquetaria (2).



CONCLUSIONES

Gracias al presente trabajo de titulación se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. a distintas concentraciones, y con los resultados obtenidos, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Se establece que el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. sí mostró una respuesta antiinflamatoria en el modelo de inducción de inflamación crónica y aguda. En cuanto a la concentración del extracto etanólico que presentó menor porcentaje de inflamación y mayor porcentaje de inhibición en las orejas de los ratones, fue el volumen aplicado de 40 μ l, cuya concentración corresponde a 0.2 mg, presentando un mayor porcentaje de inhibición en el modelo de inflamación aguda (61,62%) que en el modelo de inflamación crónica (40,66%).
- A partir del análisis de los resultados histopatológicos de las estructuras anatomorfológicas de las orejas de los ratones, se determina que los grupos tratados con el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. muestran menor daño tisular que el grupo control negativo, por lo que el extracto demostró eficacia antiinflamatoria al presentar discreta infiltración de células inflamatorias y al reducir el edema en los modelos de inducción de inflamación crónica y aguda.

RECOMENDACIONES

- Con los estudios realizados no es posible determinar mecanismos de acción, pero los resultados invitan a continuar estudios para determinar los posibles mecanismos implicados en el efecto farmacológico.
- Para una siguiente investigación se aconseja determinar exactamente al metabolito responsable de la actividad antiinflamatoria.
- Se recomienda realizar ensayos toxicológicos dérmicos y farmacocinéticos.
- Se propone la realización de estudios in vitro y otros que evalúen la actividad citoprotectora y antioxidante, para determinar la efectividad terapéutica.
- Se sugiere la elaboración de una forma farmacéutica a base del rizoma de *Smilax purhampuy* R., y la realización de sus análisis de control de calidad.
- Aumentar la concentración del extracto para evaluar si presenta actividad antiinflamatoria.

GLOSARIO

Antinocicepción: Se refiere a la reversión o alteración de los aspectos sensoriales de la intensidad del dolor.

Atenuar: Disminuir la intensidad, la fuerza o el valor de un hecho o de un suceso.

Arterioesclerosis: Es una afección en la cual placa se acumula dentro de las arterias.

Bejucos: Diferentes especies de plantas de tallos delgados, largos y flexibles

Carpelos: Los carpelos son hojas modificadas que forman la parte reproductiva femenina de la flor de las plantas angiospermas.

Cromatografía: Método de análisis que permite la separación de gases o líquidos de una mezcla por adsorción selectiva, produciendo manchas diferentemente coloreadas en el medio adsorbente; está basado en la diferente velocidad con la que se mueve cada fluido a través de una sustancia porosa.

Decocción: Acción de cocer en agua sustancias

Edema: Presencia de un exceso de líquido en algún órgano o tejido del cuerpo que, en ocasiones, puede ofrecer el aspecto de una hinchazón blanda.

Endotoxina: Es un componente mayoritario de la membrana externa de las bacterias Gram negativas.

Enzima: Es una proteína que cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo.

Extracto: Sustancia muy concentrada que se obtiene de diferentes partes de una planta por diversos procedimientos.

Extravasación: Salirse de su vaso o conducto normal.

Fagocitosis: Proceso por el cual ciertas células y organismos unicelulares capturan y digieren partículas nocivas o alimento.

Gastropatía: Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.

Influjo: Efecto, consecuencia o cambio que produce una cosa en otra.

Inhibición: Es la acción de interrumpir algún proceso impidiendo su continuidad.

Macrófago: Son fagocitos junto con los neutrófilos y otras células.

Metabolismo: Conjunto de los cambios químicos y biológicos que se producen continuamente en las células vivas de un organismo.

Proliferación: Incremento de la cantidad o el número de algo de forma rápida.

Prostaglandinas: Las prostaglandinas son un conjunto de sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos de 20 carbonos, que contienen un anillo ciclopentano y constituyen una familia de mediadores celulares

Psoriasis: Es una enfermedad frecuente de la piel que acelera el ciclo de vida de las células cutáneas.

Secreción: Elaboración y expulsión de una sustancia específica por actividad de una glándula.

Sedimentación: Proceso por el cual el material sólido de una sustancia, termina en el fondo.

Súpero: Que se desarrolla por encima de los verticilos.

Rubor: Es el enrojecimiento de la piel de la cara.

Tópico: En farmacología se usa ese término para referirse a un medicamento que se aplica externamente sobre la zona afectada.

Tromboxano: Los tromboxanos son eicosanoides derivados del ácido araquidónico.

Vasodilatación: Aumento del calibre de un vaso por relajación de las fibras musculares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Romero GB. Actualización en fitoterapia y plantas medicinales. *Terapéutica en APS*. 2012;19(3):149–60.
2. Khan A, Singh PD, Reese PB, Howden J, Golding M, Thomas TT. Investigation of the preliminary mechanism of action for the acute anti-inflammatory activity of the methanol extract of *Smilax ornata* Lem. *J Ethnopharmacol*. 2019;6(3):1–5.
3. Khan AK, Singh PD, Reese PB, Howden J, Thomas TT. Investigation of the anti-inflammatory and the analgesic effects of the extracts from *Smilax ornata* Lem. (Jamaican sarsaparilla) plant. *J Ethnopharmacol*. 2019;240(19):112–230.
4. Zhou M, Huang L, Li L, Wei Y, Shu J, Liu X, et al. New furostanol saponins with anti-inflammatory and cytotoxic activities from the rhizomes of *Smilax davidiana*. *Steroids*. 2017;127(13):62–8.
5. Ericka V. *Revista de Actualización Clínica Volumen 43 2014*. *Rev Actual Clínica*. 2014;43:2261–5.
6. León M, Borges A, Alvarado L. Respuesta inflamatoria aguda . Consideraciones bioquímicas y celulares Inflammatory Acute Response . Biochemical and Cellular. *Rev Finlay*. 2016;5(1):2221–434.
7. Mendoza Urrutia LA, Salvatierra Laytén G, Frisancho Velarde O. Perfil del consumidor de antiinflamatorios no esteroideos en Chiclayo y Cajamarca, Perú Non-steroidal anti-inflammatory drug user profile in Chiclayo and Cajamarca, Peru. *Acta Med Per*. 2008;25(4):216–9.
8. Oscanoa T, Lizaraso F. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: gastrointestinal and cardiovascular and renal safety. *Soc Gastroenterol del Perú*. 2015;35(1):63–71.
9. Salas MM, Llanos AA, Salazar YX, Pérez PB. Consumo de antiinflamatorios no esteroideos en atención primaria en Costa Rica: Evolución y variabilidad geográfica. *Gac Sanit*. 2007;21(6):458–64.

10. Lee HE, Kim JA, Whang WK. Chemical constituents of smilax China I. stems and their inhibitory activities against glycation, aldose reductase, α -glucosidase, and lipase. *Molecules*. 2017;22(3).
11. Xu S, Shang MY, Liu GX, Xu F, Wang X, Shou CC, et al. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity. *Molecules*. 2013;18(5):5265–87.
12. Hirota BCK, Paula CDS, De Oliveira VB, Da Cunha JM, Schreiber AK, Ocampos FMM, et al. Phytochemical and antinociceptive, anti-inflammatory, and antioxidant studies of *Smilax larvata* (Smilacaceae). *Evidence-based Complement Altern Med*. 2016;8(12):2–13.
13. Zhong C, Hu D, Hou LB, Song LY, Zhang YJ, Xie Y, et al. Phenolic compounds from the rhizomes of *Smilax China L.* & their anti-inflammatory activity. *Molecules*. 2017;22(4):8–12.
14. Morán A, Reyes J. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del rizoma *Smilax domingensis* Willd cultivada en Cuba [tesis de grado]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2019.
15. Salaverry LS, Parrado AC, Mangone FM, Dobrecky CB, Flor SA, Lombardo T, et al. In vitro anti-inflammatory properties of *Smilax campestris* aqueous extract in human macrophages, and characterization of its flavonoid profile. *J Ethnopharmacol*. 2019;19(27):112–282.
16. Shu J, Li L, Zhou M, Yu J, Peng C, Shao F, et al. Three new flavonoid glycosides from *Smilax glabra* and their anti-inflammatory activity. *Nat Prod Res*. 2018;32(15):1760–8.
17. Wang S, Fang Y, Yu X, Guo L, Zhang X, Xia D. The flavonoid-rich fraction from rhizomes of *Smilax glabra* Roxb. ameliorates renal oxidative stress and inflammation in uric acid nephropathy rats through promoting uric acid excretion. *Biomed Pharmacother*. 2019;111(12):162–8.
18. Khan AK, Singh PD, Reese PB, Howden J, Thomas TT. Investigation of the anti-inflammatory and the analgesic effects of the extracts from *Smilax ornata* Lem. (Jamaican sarsaparilla) plant. *J Ethnopharmacol*. 2019;18(1

19. Macvean A. Diversidad , distribucion e importancia economica de Smilax (Smilacaceae) de. Biodivers Guatemala. 2017;1(12):163–73.
20. Tian LW, Zhang Z, Long HL, Zhang YJ. Steroidal Saponins from the Genus Smilax and Their Biological Activities. Nat Products Bioprospect. 2017;7(4):283–98.
21. Lu CL, Zhu W, Wang M, Xu XJ, Lu CJ. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic-enriched extracts of smilax glabra. Evidence-based Complement Altern Med. 2014;2014:1–9.
22. Gonzalez J, Cuéllar A, Armas T de, Gómez E, Dopico E. Evaluación farmacognóstica y fitoquímica preliminar de Smilax domingensis Willd. J Chem Inf Model. 2017;3(2):1689–99.
23. Mero A, Muñoz K. Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar del rizoma de Smilax purhampuy R. [tesis de grado]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2019.
24. Aguaysa R, Carabali D. Estudio de toxicidad aguda oral de los extractos etanólico y acuoso del rizoma de Smilax purhampuy R. [tesis de grado]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2019.
25. Maricarmen G, Padrón AA. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Reista Habanera de Ciencias Médicas. 2019;18(1):30–44.
26. Gómez A. Inhibidores de la COX ¿hacia dónde vamos? Rev Sociedad Española del Dolor. 2005;2(6):321–5.
27. Batlouni M. Antiinflamatorios No Esteroides : Efectos Cardiovasculares , Cerebrovasculares y Renales. Soc Bras Cardiol MCMXLIII. 2010;94(4):538–46.
28. Leyva R, Martínez O, Naranjo G. Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroides a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide II. Rev Espec Médico-Quirúrgicas. 2007;12(1):41–5.
29. Páramo J, Beloqui Ó, Orbe J. Ciclooxigenasa 2: ¿ una nueva diana

- terapéutica en la aterosclerosis? *Med Clin (Barc)*. 2006;126(20):782–6.
30. Sáez M, Sánchez N, Jimñenez S. Tratamiento del dolor en el anciano: analgésicos no opioides. *Rev Sociedad Española del Dolor*. 2016;23(1):39–44.
 31. Domingo J. Efectos adversos. *Farm Prof*. 2002;16(7):48–54.
 32. Ramirez W. Uso correcto de los esteroides tópicos en atención primaria. *Rev Med Costa Rica y Centroam*. 2014;71(613):801–6.
 33. Carreño N. Terapia médica actual en reumatología. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2012;23(4):413–22.
 34. Benedí J, Romero C. Terapia antiinflamatoria tópica. *Farm Prof*. 2006;20(5):1–9.
 35. Sendagorta E, Lucas R. Tratamiento De La Dermatitis Atópica. *Rev Pediatría Atención Primaria*. 2009;5(6):448–54.
 36. Puig L, Carretero G. Update on Topical Treatments for Psoriasis: The Role of Calcipotriol Plus Betamethasone Dipropionate Aerosol Foam. *Actas Dermosifiliogr*. 2019;110(2):115–23.
 37. Navarro D. Investigación preclínica en las ciencias biomédicas. *Rev Cubana Estomatol*. 2015;52(2):171–87.
 38. Marovac J. Investigación y desarrollo de nuevos medicamentos: de la molécula al fármaco. *Rev médica Chile*. 2001;129(1):99–106.
 39. Regalado AI, Sánchez LM, Mancebo B. Actividad anti-inflamatoria de los extractos metanólicos de hojas y de tallos de *tabebuia hypoleuca* (C. Wright) Urb. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2015;3(5):109–17.
 40. Gómez Estrada HA, González Ruiz KN, Medina JD. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat*. 2011;10(3):182–217.
 41. Ramón G. Diagnóstico histopatológico . Pruebas. *Rev Gastroenterol México*. 2015;2(75):248–50.

42. Cosquillo Rafael M, Placencia Medina M, Retuerto Figueroa M, Gorriti Gutierrez A, Tarazona Huamaní J. Caracterización físico-química y capacidad antioxidante de extractos del rizoma de *Curcuma longa* L. *Rev Peru Med Integr.* 2019;3(4):160.
43. González AD, Vázquez AIF, García ND, Mary RR, Suárez HRC, Suárez AMA, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of an organic extract from the red alga *galaxaura rugosa* (J. ellis & Solander) J.V. Lamouroux. *Rev Cuba Plantas Med.* 2014;1(19):235–47.
44. Díaz M, Conde J, Félix P, Ramírez S, Vicuña R. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema a partir del extracto purificado de *Baccharis Tricuneata* “Taya.” *ECIPERU.* 2012;9(1):16–21.
45. Núñez R. D, Balboa P. N, Alvear Z. M, Ceron N. A, Abarzua S. K, Vasconcellos C. A. Evaluación de la actividad anti-inflamatoria de propóleos chileno sobre cortes histológicos de orejas de ratón. *Int J Morphol.* 2018;36(1):189–93.
46. Garrote A, Bonet R. El papel de los AINE en el tratamiento analgésico. *Univ pública Navarra.* 2017;22(2):2–4.
47. Dévora S, Abdala S, Martín-herrera D. Peripheral Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Smilax canariensis* in an Animal Model. *Sci Res Publ.* 2015;6(18):391–400.

Pamela Katiuska Márquez Daza

Química Farmacéutica, prestó servicios en la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria en el área de certificación de medicamentos generales, trabajó en el Instituto de Seguridad Social de las Fuerzas Armadas, actualmente ejerce como apoyo de gestión farmacéutica en el Hospital General Dr. Enrique Ortega Moreira, es representante técnica de farmacias del grupo DIFARE. Tiene un diplomado en Atención Farmacéutica y Farmacia Hospitalaria de la Universidad de Guayaquil y actualmente está culminando una maestría en Salud Pública con mención en Atención Primaria de Salud en la Universidad Estatal de Milagro.

Pilar Asunción Soledispa Cañarte

Master en Química Farmacéutica, trabajó como analista de medicamentos en el Instituto Nacional de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez por más de 20 años, presto servicios para la realización del pre y post registro sanitario, fue jefa de control y aseguramiento de la calidad en Industria Farmacéutica - Indunidas, Universidad de Guayaquil - Facultad de Ciencias Químicas, donde actualmente es docente investigador, cátedras de las materias Análisis de Medicamentos, Tecnología Farmacéutica y Farmacología en pregrado y Biofarmacia y Farmacocinética en la maestría de Farmacia mención farmacia clínica, además es Gestora de Integración Curricular de pregrado, Participación en producciones científicas: Proyectos de investigación, participación en Congresos, artículos, ponencias Tutora de tesis de pregrado y postgrado, Directora de proyectos FCI y de semilleros. Actualmente estoy terminando un doctorado en Ciencias Farmacéuticas.

Glenda Marcela Sarmiento Tomalá

Química y Farmacéutica, docente de la Universidad de Guayaquil (UG), Facultad de Ciencias Químicas desde el 2006, obtuvo Diploma Superior en Evaluación y Acreditación de la Educación Superior (cuarto nivel), Maestría en Planificación Evaluación y Acreditación de la Educación Superior, Maestría en Farmacología, actualmente está culminando Doctorado en Ciencias Farmacéuticas en la Universidad de la Habana Cuba. En la Universidad de Guayaquil ha realizado actividades como: analista de gestión de la calidad en Programa Progeca-Bioterio, realizando ensayos e investigaciones preclínicas en fitofármacos y plaguicidas, coordinadora de la Unidad de Titulación, miembro del Comité Científico de Investigación. Tutora y cotutora de Trabajos de Titulación, tutora de Eventos Científicos Estudiantiles de "Galardones. SENESCYT, coordinadora de Maestría en Farmacia con mención en Farmacia Clínica, investigadora reconocida por la SENESCYT; tiene publicaciones de artículos, capítulos de libro y libros en editoriales regionales e internacionales de alto impacto, ha participado en proyectos de investigación interdisciplinarios e interinstitucionales regionales, ha participado en congresos internacionales como ponente desde el año 2014.

Alexandra Jenny López Barrera

Alexandra Jenny López Barrera Química y Farmacéutica. Docente de la Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas. Máster en Química Farmacéutica en la Universidad de la Habana - Cuba. Actualmente terminando un Doctorado en Ciencias Farmacéuticas. Trabajo en la implementación de la norma ISO 17025 en la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria ARCSA, jefe de producción en el Laboratorio Máster Plant. Analista de control de calidad en el laboratorio Bristol Meyers Squibb.

Giomara Quizhpe Monar

Química Farmacéutica; Magister en Procesamientos de Alimentos, Universidad de Agraria del Ecuador, Máster en Gestión de Proyectos por la Universidad Espíritu Santo, Diplomado en Innovación Educativa y Metacognición para el Aprendizaje, título Universidad de la Américas, Química y Farmacéutica graduada en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. Inicia su vida profesional en el terreno de la Bioquímica Clínica, Hematología y Bacteriología. Ingresa en el año 2001 a colaborar con el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" en donde incursiona en el área de alimentos procesados, pasando luego a ocupar cargos de liderazgo en el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública.

ISBN: 978-9942-7196-3-8



9 789942 719638