

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,**  
**BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS**  
**PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA DE LOS  
EXTRACTOS SECOS DE LAS HOJAS DE *Perezia Multiflora*  
(ESCORZONERA) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.  
AREQUIPA-2013”**

**Tesis presentada por el Bachiller en Farmacia y  
Bioquímica.**

**VALDIVIA UGARTE JAIME ENRIQUE**

**Para obtener el Título Profesional de Químico-  
Farmacéutico**

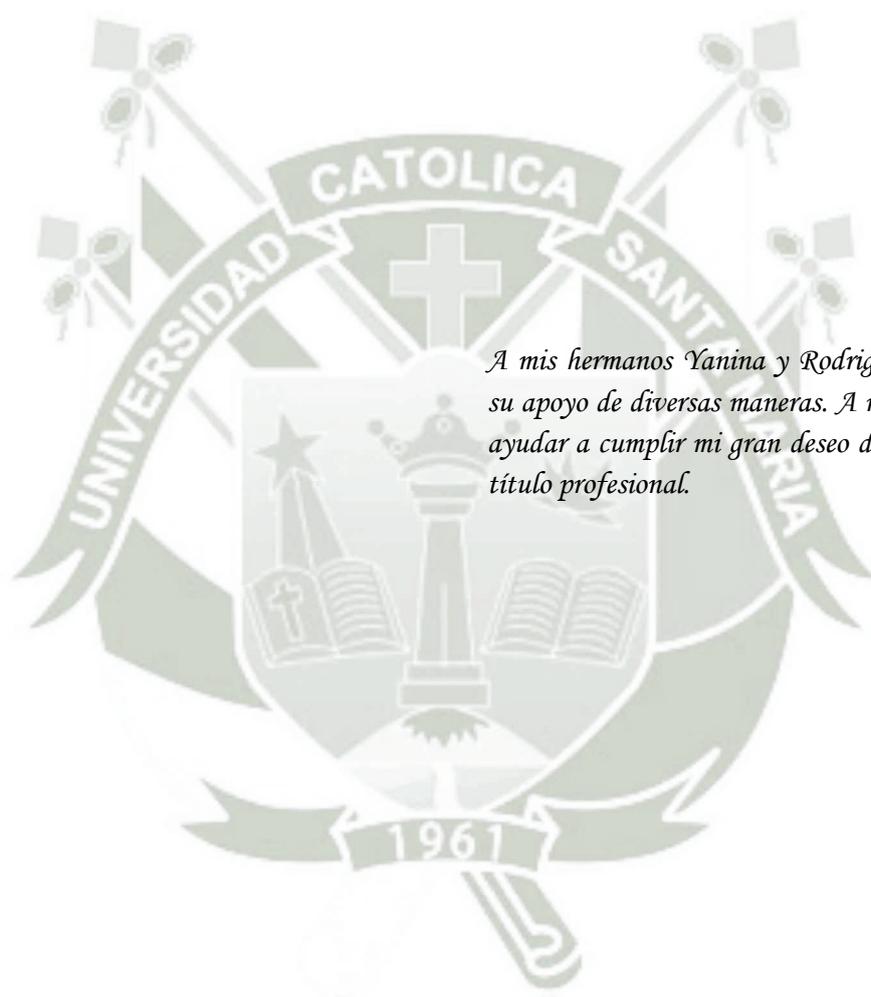
**Asesora:**

**Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar**

**Arequipa – Perú**

**2013**

*Dedico esta investigación a mis padres Jaime Valdívila Dávila y Eliana Ugarte Escalante por todo el apoyo brindado durante todo el transcurso de mi carrera, por su amor y fe en mí.*



*A mis hermanos Yanina y Rodrigo que me dieron su apoyo de diversas maneras. A mis abuelitos por ayudar a cumplir mi gran deseo de poder sacar mi título profesional.*

*Y a mí fiel compañera, gran amiga y futura esposa, que amo Grethel Ugarte Andía gracias por su apoyo en todo momento.*



*Nuestra gloria más grande no consiste en no haberse caído,  
sino en haberse levantado después de la caída.*

*Confucio*

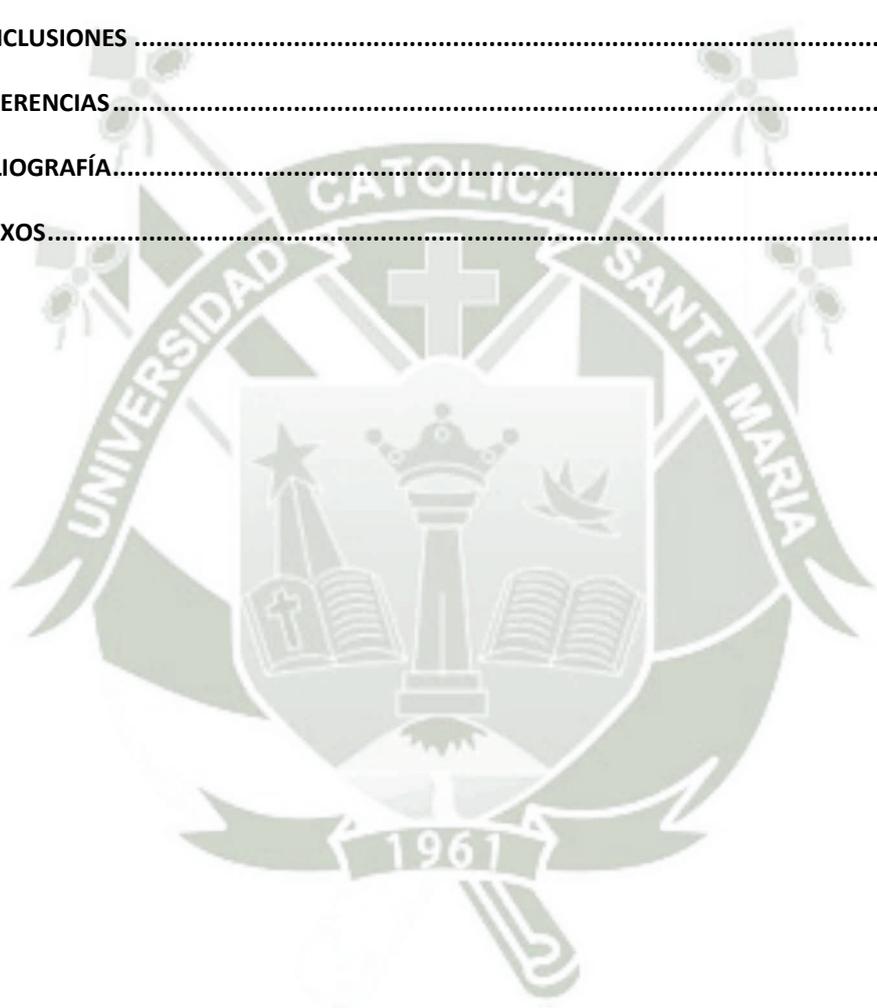
## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>8</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>8</b>
1.1. <i>PEREZIA MULTIFLORA</i> (ESCORZONERA) .....	8
1.1.1. <i>DESCRIPCIÓN BOTÁNICA</i> .....	8
1.1.2. <i>CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA</i> <sup>32</sup> .....	9
1.1.3. <i>PARTES DE LA PLANTA QUE SE UTILIZAN</i> .....	9
1.1.4. <i>COMPOSICIÓN</i> .....	10
1.1.5. <i>USOS MEDICINALES</i> .....	10
1.1.6. <i>OTRAS PROPIEDADES Y USOS</i> .....	10
1.2.    FIEBRE .....	11
1.2.1. <i>CONCEPTO</i> .....	11
1.2.2. <i>FISIOPATOLOGÍA</i> .....	12
1.2.2.1    CONTROL DE LA TERMORREGULACIÓN .....	12
1.2.2.2    MECANISMOS DE PRODUCCIÓN.....	13
1.2.2.3    ANTIPIRÉTICOS ENDÓGENOS.....	15
1.2.2.4    SIGNIFICADO BIOLÓGICO.....	16
1.2.3. <i>MANIFESTACIONES CLÍNICAS</i> .....	17
1.2.4. <i>TRATAMIENTO</i> .....	19
1.2.5. <i>SITUACIONES CLÍNICAS ASOCIADAS A LA FIEBRE</i> .....	20
1.2.5.1    HIPERTERMIA MALIGNA .....	20
1.2.5.2    SÍNDROME NEUROLÉPTICO MALIGNO .....	20
1.2.5.3    HIPERPIREXIA.....	20
1.2.5.4    CONVULSIONES FEBRILES .....	21
1.2.5.5    GESTACIÓN .....	21
1.2.5.6    COMPROMISO CARDIOPULMONAR.....	21
1.2.5.7    ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN CEREBRAL .....	21
1.2.5.8    FIEBRE POR FÁRMACOS .....	22
1.2.6. <i>MANEJO TERAPÉUTICO DE LA FIEBRE</i> .....	22

1.2.6.1	MEDIDAS FÍSICAS .....	22
1.2.6.2	MEDIDAS FARMACOLÓGICAS .....	23
1.3.	FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO SINTOMÁTICO DE LA FIEBRE .....	24
1.3.1.	<i>SALICILATOS</i> .....	24
1.3.1.1	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO .....	24
1.3.1.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	25
1.3.1.1.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA .....	26
1.3.1.1.3	RAMS .....	26
1.3.2.	<i>DERIVADOS DEL PARAAMINOFENOL: ACETAMINOFEN</i> .....	26
1.3.2.1	PARACETAMOL .....	26
1.3.2.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	27
1.3.2.1.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA <sup>03</sup> .....	28
1.3.2.1.3	RAMS .....	28
1.3.3.	<i>DERIVADOS PIRAZÓLICOS</i> .....	29
1.3.3.1	METAMIZOL .....	29
1.3.3.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	29
1.3.3.1.2	POSOLOGÍA <sup>03</sup> .....	29
1.3.3.1.3	RAMS .....	30
1.3.4.	<i>DERIVADOS INDOLACÉTICOS</i> .....	30
1.3.4.1	INDOMETACINA .....	31
1.3.4.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	31
1.3.4.1.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA <sup>03</sup> .....	31
1.3.4.1.3	RAMS .....	31
1.3.5.	<i>DERIVADOS DEL ÁCIDO PROPIÓNICO</i> .....	32
1.3.5.1	IBUPROFENO .....	32
1.3.5.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	32
1.3.5.1.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA <sup>(03)</sup> .....	32
1.3.5.1.3	RAMS .....	33
1.3.5.2	NAPROXENO .....	33
1.3.5.2.1	FARMACOCINÉTICA .....	33
1.3.5.2.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA <sup>(03)</sup> .....	33
1.3.5.2.3	RAMS .....	34
1.3.6.	<i>DERIVADOS DEL ÁCIDO FENILACÉTICO</i> .....	34
1.3.6.1	DICLOFENACO .....	34
1.3.6.1.1	FARMACOCINÉTICA .....	34
1.3.6.1.2	DOSIS ANTIPIRÉTICA <sup>(03)</sup> .....	34
1.3.6.1.3	RAMS .....	35
<b>CAPÍTULO II</b> .....		<b>36</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....		<b>36</b>

2.1.	MATERIALES .....	36
2.1.1.	MATERIAL DE ESTUDIO .....	36
2.1.1.1	HOJAS DE ESCORZONERA .....	36
2.1.2.	MATERIAL BIOLÓGICO .....	36
2.1.2.1	RATAS ALBINAS .....	37
2.1.3.	MATERIAL DE LABORATORIO .....	37
2.1.3.1	MATERIAL DE VIDRIO .....	37
2.1.3.2	EQUIPOS DE LABORATORIO .....	37
2.1.3.3	REACTIVOS .....	38
2.1.3.4	MATERIAL FARMACOLÓGICO .....	38
2.1.3.5	OTROS .....	38
2.2.	MÉTODOS .....	39
2.2.1.	PREPARACIÓN DE LA ESCORZONERA (PEREZIA MULTIFLORA) PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO .....	39
2.2.1.1	RECOLECCIÓN .....	39
2.2.1.2	SELECCIÓN .....	39
2.2.1.3	ESTABILIZACIÓN .....	40
2.2.1.4	DESECACIÓN .....	40
2.2.2.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	40
2.2.2.1	MÉTODO DE EXTRACCIÓN CONTINUA: SOXHLET .....	40
2.2.2.1.1	FUNDAMENTO .....	40
2.2.2.1.2	PROCEDIMIENTO .....	41
2.2.2.1.3	DISOLVENTES .....	42
2.2.3.	IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA .....	43
2.2.3.1	MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA .....	43
2.2.3.1.1	FUNDAMENTO .....	43
2.2.3.1.2	FACTOR DE REFERENCIA .....	43
2.2.4.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA .....	44
2.2.4.1	FUNDAMENTO .....	44
2.2.4.2	PREPARACIÓN DE LA UNIDAD BIOLÓGICA ANIMAL .....	44
2.2.4.3	ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA INDUCCIÓN DE FIEBRE .....	44
2.2.4.4	ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS DE EXTRACTO DE ESCORZONERA .....	46
2.2.4.5	ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS DE PARACETAMOL .....	47
2.2.4.6	PREPARACIÓN DE LAS DOSIS DE LOS EXTRACTOS DE ESCORZONERA .....	48
2.2.4.7	ESTUDIO FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA DE LOS EXTRACTOS SECOS DE ESCORZONERA .....	49
2.2.5.	MÉTODOS ESTADÍSTICOS .....	51
2.2.5.1	PRUEBA DE SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA .....	51

2.2.5.1.1	ANÁLISIS DE VARIANZA.....	51
2.2.5.1.2	PRUEBA DE TUKEY .....	51
<b>CAPÍTULO III .....</b>		<b>52</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>52</b>
3.1.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ESCORZONERA .....	53
3.2.	IDENTIFICACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	54
3.3.	ESTUDIO PRELIMINAR .....	58
3.4.	ESTUDIO FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCORZONERA .	60
<b>CONCLUSIONES .....</b>		<b>75</b>
<b>SUGERENCIAS.....</b>		<b>76</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>		<b>77</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>81</b>



## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó la actividad antipirética de las hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera) utilizando tres de sus extractos secos, obtenidos con los disolventes: benceno; acetato de etilo y alcohol etílico.

Para ello se adquirió la planta medicinal en un centro de abastos de la localidad, seleccionando las hojas para el procedimiento de extracción, el cual se realizó con el equipo de destilación Soxhlet.

Se realizó el análisis fitoquímico preliminar utilizando como método la cromatografía en capa fina, encontrándose en los tres extractos la presencia de saponinas, terpenos, taninos y; además, sólo en el extracto etanólico, se identificaron flavonoides.

Para la evaluación de la actividad antipirética, se realizaron tres pruebas preliminares; la primera con el fin de determinar la actividad de la levadura de cerveza como agente pirógeno exógeno, la segunda prueba preliminar sirvió para determinar la dosis antipirética efectiva del paracetamol en los animales de experimentación; y finalmente la tercera para determinar la concentración de la probable dosis antipirética de los tres extractos. Mediante los resultados de estas pruebas se determinó la dosis de 10 mL/kg de solución de levadura de cerveza al 20% produciendo en los animales piresis; 500 mg/kg de extracto seco de benceno, acetato de etilo y alcohol etílico que demostraron efecto antipirético; y 500 mg/kg fue la dosis de paracetamol útil para el mismo fin.

Para el estudio definitivo se utilizaron 25 ratas machos los cuales fueron distribuidos en 5 grupos: Grupo extracto benceno, acetato de etilo y etanólico, grupo control y grupo paracetamol. Antes de la administración del agente pirógeno experimental se midió la temperatura rectal que constituyó la temperatura basal; luego se administró la solución de levadura de cerveza al 20% vía SC; posteriormente a las 15 horas las ratas se encontraban febriles, administrándose a partir de este tiempo los extractos. Transcurridos 30, 60 y 120 minutos; después de

cada administración se midió la temperatura rectal en cada animal. La evaluación final mediante la comparación estadística de grupos con un margen crítico de  $p < 0.05$  de los tres extractos a una dosis de 500 mg/kg, frente a un grupo control y un grupo tratado con 500 mg/kg de paracetamol; en ratas en estado febril experimental, dio como resultado una mayor eficacia para el extracto de acetato de etilo, cuyo efecto es comparable estadísticamente a la del paracetamol. Los extractos de benceno y alcohol etílico mostraron un efecto antipirético menor que el acetato de etilo no siendo significativo estadísticamente diferente cuando fueron comparadas con el paracetamol.



## ABSTRACT

In the present research evaluated the antipyretic activity of leaves *Perezia multiflora* (salsify) using three dry extracts obtained with solvents: benzene, ethyl acetate and ethyl alcohol.

This medicinal plant was purchased at a local wholesale food, selecting the sheets to the extraction procedure, which was performed with the Soxhlet distillation equipment.

Phytochemical analysis was performed using as a method preliminary thin layer chromatography, finding the three extracts in the presence of saponins, terpenes, tannins, and, in addition, only the ethanol extract were identified flavonoids.

For evaluation of the anti-pyretic activity, preliminary tests were three, the first in order to determine the activity of the yeast exogenous pyrogen agent, the second preliminary test was used to determine the effective anti-pyretic dose of paracetamol in animals experimentation, and finally the third to determine the concentration of probable pyretic dose of the three extracts. Using the results of these tests determined dosage of 10 mL / kg of yeast solution 20% in animals producing pyresis, 500 mg / kg of dry ethyl acetate, benzene and ethyl alcohol showed antipyretic , and 500 mg / kg acetaminophen dose was useful for the same purpose.

For the final study used 25 male rats which were divided into 5 groups: Group ethanol extract, ethyl acetate and benzene, paracetamol group and control group. Before agent administration experimental pyrogenic rectal temperature was measured which was the baseline temperature, then the solution was administered yeast via SC 20%, at 15 hours later the rats were febrile administered from this extracts time. After 30, 60 and 120 minutes after each administration rectal temperature was measured in each animal. The final evaluation by statistical comparison of groups with a critical range of  $p < 0.05$  in all three extracts in a dose of 500 mg / kg, compared to a control group and a group treated with 500 mg / kg of paracetamol in rats experimental feverish state, resulting in a greater efficiency for

the ethyl acetate extract, which effect is statistically comparable to that of paracetamol. Extracts of benzene and ethyl alcohol showed antipyretic less than acetate statistically not significant different when they were compared with Paracetamol.



## INTRODUCCIÓN

La fiebre al igual que el dolor y la inflamación constituye una respuesta fisiológica ante una lesión o proceso inflamatorio, llamándose como pirógenos a las sustancias (endógenas o exógenas) que alteran el centro termorregulador de la temperatura corporal: el hipotálamo. Al margen del criterio de combatir o no la fiebre como síntoma, la población tiene una clara tendencia a combatirla disponiendo además de fármacos plantas medicinales. Así nuestra población recurre a plantas medicinales para tratar la fiebre una de ellas es la escorzonera o chancorma o chancoruma, hierba perenne perteneciente a la familia de las Asteráceas o familia de las “margaritas”, siendo su nombre binomial *Perezia multiflora*, hierba que crece espontáneamente en las zonas altas de nuestra región. Los pobladores de estas zonas, le atribuyen a sus hojas entre otros efectos el ser antipirética o sudorífica a la infusión de sus hojas.

Al verificar la información bibliográfica referente a los usos medicinales no se disponen de estudios científicos que confirmen dicha actividad, razón por la cual el autor de este estudio, encontró justificación suficiente para emprender la evaluación de la actividad antipirética de las hojas de la escorzonera, a través de un modelo experimental con levadura de cerveza por vía subcutánea como agente pirógeno; utilizando para ello animales de experimentación. Este modelo experimental se ejecutó mediante un diseño correspondiente a una investigación experimental pura. En los siguientes capítulos se desarrolla la investigación iniciando con el marco teórico de este estudio, los métodos utilizados en el capítulo siguiente, para finalizar con las conclusiones y sugerencias de investigación.

## OBJETIVOS

1. Obtener extractos secos (bencénico, acetato de etilo y etanólico) a partir de hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera.
2. Identificar las familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos secos (bencénico, acetato de etilo y etanólico) de hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera mediante cromatografía en capa fina.
3. Determinar qué tipo de extracto seco (bencénico, acetato de etilo y etanólico) de las hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera muestra mayor efecto antipirético en animales febriles experimentalmente.
4. Determinar experimentalmente la mayor o menor eficacia de la actividad del extracto seco de hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera en comparación con un fármaco de referencia: paracetamol.

## HIPÓTESIS

Dado que la planta escorzonera es utilizada tradicionalmente para el tratamiento de la fiebre, es probable que los extractos obtenidos con benceno, acetato de etilo y etanol, de las hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera); presenten una actividad antipirética en fiebre inducida en animales de experimentación.



## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. *Perezia Multiflora* (ESCORZONERA)

##### 1.1.1. Descripción botánica

Hierba perenne, de 20 a 30 cm de alto, raíz engrosada y profunda. Tallo pequeño ramoso. Hojas basales y caulinares; las basales arrosetadas con peciolo abrazador, alargadas de 1 a 15 cm de largo, margen fuertemente dentado hasta lacerado, espinoso y punzante. Capítulos discoideos-acampanados; involucre con 3-4 series de brácteas oblongo-lanceoladas, ápice acuminado-espiniscente. Flores bilabiadas hermafroditas, labio superior tridentado el inferior bidentado; cáliz plumoso. Fruto aquenio cilíndrico, hispidopubescente.<sup>37</sup>

### 1.1.2. Clasificación taxonómica <sup>32</sup>

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Tipo</b>	Embriofitas
<b>Subtipo</b>	Angiospermas
<b>Clase</b>	Dicotyledoneae
<b>Subclase</b>	Asteridas
<b>Orden</b>	Campanulales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Género</b>	Perezia
<b>Especie</b>	Perezia multiflora

Fuente: Mostacero Mejía 2002

### 1.1.3. Partes de la planta que se utilizan

Las partes de la planta que principalmente se utilizan son las hojas, con menor frecuencia se utilizan también sus raíces. <sup>7</sup>



FIGURA N°1: ESCORZONERA. <sup>37</sup>

Planta perenne que crece en laderas de cerros, pendientes rocosas, suelos franco-arenosos, pedregosos y cerca de los caminos de herradura. Desde 3900-4100 m.s.n.m.<sup>37</sup>

#### **1.1.4.Composición**

La única referencia sobre la composición química de la escorzonera señala como constituyentes a: coniferina, colina, asparagina, histidina y arginina.<sup>37</sup>

#### **1.1.5.Usos medicinales**

Se atribuyen efecto antipirético – sudorífico y diuréticos, tomando la infusión de sus hojas (4 hojas) litro. Además se le atribuyen efectos expectorantes y diuréticos; para este último efecto se debe tomar como agua de tiempo, al cocimiento de las raíces y hojas (20 g/l).<sup>37</sup>

#### **1.1.6.Otras propiedades y usos**

Algunos campesinos usan la planta, sin raíz, en cocimiento para la bronquitis de los ovinos.<sup>37</sup>

## 1.2. FIEBRE

### 1.2.1. Concepto

La fiebre se define como una elevación de la temperatura corporal, por encima de la variación normal diaria, como consecuencia de cambios producidos en el centro termorregulador hipotalámico.<sup>10</sup>

El hombre es el único animal que puede sobrevivir en cualquier clima debido a la posibilidad de regular la temperatura corporal mediante la capacidad del centro termorregulador de equilibrar la producción y la pérdida de calor.

La media de la temperatura del organismo, en individuos sanos de mediana edad, es de  $36,8 \pm 0,4$  °C, alcanzando su valor mínimo hacia las 6.00 horas y el máximo entre las 16.00 y las 18.00 horas. Esta variación diaria, denominada ritmo circadiano, en ocasiones puede ser de hasta 1 °C de diferencia. Este ritmo se mantiene habitualmente en los procesos febriles, incluso en los de origen infeccioso, en los cuales los niveles circulantes de pirógenos exógenos son constantes a lo largo del día; sin embargo, dicho ritmo se pierde en la hipertermia, un proceso que cursa con temperatura elevada pero con una patogenia distinta.<sup>10</sup>

Aunque la temperatura central del organismo humano suele mantenerse en límites muy precisos, diversas partes de aquél pueden tener diferentes temperaturas, como la piel, que permanece habitualmente a 30 °C, y los músculos de los brazos y las piernas, que también tienen una temperatura inferior a la central, mientras que el hígado, una de las principales fuentes de calor, mantiene una temperatura constante de 38,5 °C.

Existe acuerdo general en considerar normal una temperatura axilar máxima de 37 °C a las 6.00 horas y de 37,5 °C a las 16.00 horas. Según este criterio, la fiebre se define por una temperatura matutina superior a 37 °C o una vespertina superior a 37,5 °C. Si se trata de la temperatura rectal, a estas cifras se añade 0,6 °C.<sup>10</sup>

En determinadas situaciones fisiológicas, como el embarazo y la menstruación, se producen alteraciones de la temperatura corporal, al igual que en los ancianos.<sup>10</sup>

### **1.2.2.Fisiopatología**

El cuerpo humano posee una extraordinaria capacidad para mantener una temperatura interna uniforme a pesar de las variaciones del entorno. El centro termorregulador hipotalámico tiene la función de mantener la homeostasia de la temperatura mediante un balance entre los mecanismos encargados de producción y pérdida de calor corporal. La principal fuente de producción de calor es la combustión metabólica, sobre la cual influyen el ejercicio, la alimentación, la temperatura exterior y factores hormonales, mientras que la pérdida de calor es regulada mediante mecanismos de conducción, radiación y evaporación a través de la piel y las mucosas.<sup>15</sup>

#### **1.2.2.1 Control de la termorregulación**

El centro del control térmico se halla en el núcleo preóptico del hipotálamo anterior y en el hipotálamo posterior, cuyas neuronas reciben aferencias procedentes de los termorreceptores periféricos cutáneos y de los centrales que perciben la temperatura de la sangre en el cerebro. Allí se produce la integración de toda la información térmica y se emiten las respuestas adaptativas eferentes.<sup>15</sup>

Cuando se establece una respuesta de termogénesis, el hipotálamo activa el sistema nervioso simpático (SNS) que induce vasoconstricción cutánea periférica, disminución de la sudación, aumento del metabolismo basal por la respuesta catecolaminérgica y activación hormonal tiroidea y suprarrenal. Cuando se requiere una respuesta brusca e intensa se ponen en marcha los mecanismos de contracción muscular (escalofríos) y piloerección para provocar un aumento de la producción de calor muscular y una disminución de la eliminación, respectivamente. A la corteza cerebral llegan estímulos que modifican la conducta y le llevan a procurarse refugio y obtener calor del exterior. Se produce un descenso en la secreción de hormona

antidiurética o vasopresina (ADH) por la neurohipófisis con objeto de disminuir el volumen circulante y facilitar su más rápido calentamiento.

Por el contrario, en la termólisis se produce una inhibición simpática que induce una disminución del tono vasomotor periférico, un aumento de la sudación mediante el incremento de la actividad colinérgica y una inhibición global de todos los mecanismos encaminados a la producción de calor anteriormente descrito.<sup>10</sup>

En definitiva, el centro hipotalámico se comporta como un fino termostato encargado de mantener la temperatura adecuada en el organismo de una manera uniforme, activando e inhibiendo complicados mecanismos según que la temperatura suba o baje por encima de un punto de ajuste predeterminado que en el hombre oscila entre los 36,5 y los 37 °C.<sup>10</sup>

De acuerdo con los conceptos expuestos, la fiebre es un fenómeno complejo que conduce a una elevación transitoria de dicho punto de ajuste, lo que determina que el organismo ponga en marcha los mecanismos de termogénesis para elevar la temperatura, adecuándola a este nuevo límite. La consecuencia es una elevación de la temperatura corporal por encima de los valores considerados normales. Sin embargo, en la hipertermia se mantiene el punto de ajuste normal, y la temperatura corporal está elevada debido a que el organismo es incapaz de provocar la termólisis suficiente para compensar el calor que está produciendo o recibiendo del exterior. Esto se produce en el hipertiroidismo, el feocromocitoma, el golpe de calor, la hipertermia inducida por el ejercicio, la hipertermia maligna o el síndrome neuroléptico maligno. Una lesión del centro hipotalámico, por fenómenos inflamatorios o hemorrágicos o tumores que provoque una pérdida de este control, puede condicionar un estado de hipertermia central; sin embargo, en estos casos lo más frecuente es la existencia de hipotermia o de poiquilotermia.<sup>10</sup>

#### **1.2.2.2 Mecanismos de producción.**

Las sustancias que actúan en el centro termorregulador hipotalámico provocando una elevación de su punto de ajuste se denominan pirógenos endógenos. Éstos son moléculas polipeptídicas producidas por diversos tipos celulares, principalmente las células fagocitarias, en respuesta a múltiples mecanismos (sobre

todo inflamatorios, infecciosos o inmunológicos), que son liberadas a la circulación e inducen, entre otras acciones, la respuesta febril sobre el hipotálamo. Se conocen diversas sustancias con estas características. La primera que se consiguió aislar y la más potente de todas ellas son la interleucina 1 (IL-1), de la que hoy se conocen dos subtipos, alfa (IL-1 $\alpha$ ) y beta (IL-1 $\beta$ ). Otros pirógenos son los factores de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$  o caquectina) y beta (TNF- $\beta$  o linfotoxina), los interferones alfa (IFN- $\alpha$ ), beta (IFN- $\beta$ ) y gamma (IFN- $\delta$ ) y un grupo de moléculas que tienen en común la capacidad de activar el receptor celular gp-130, como la IL-6, la IL-11, el factor neurotrófico ciliar (CNTF) y la oncostatina M. Otras funciones de estas citocinas están relacionadas con la activación de la respuesta inmunológica inespecífica y específica y la síntesis de reactantes de fase aguda, principalmente a través de la IL-6, y la disminución de la síntesis hepática de albúmina en favor de un incremento en la síntesis de proteína C reactiva, antiproteasas, componentes del complemento, fibrinógeno, ceruloplasmina, ferritina, haptoglobina, proteína sérica amiloide A.<sup>15</sup>

Los pirógenos endógenos, que reciben el nombre genérico de citocinas, pueden actuar localmente (nivel autocrino o paracrino) o por vía sistémica. Al no poder atravesar la barrera hematoencefálica, llegan al cerebro a través de los órganos circunventriculares, pequeños grupos neuronales situados alrededor del sistema ventricular cerebral que contienen capilares fenestrados. En uno de ellos muy próximo al hipotálamo, el órgano vasculoso de la lámina terminal, parece residir la puerta de entrada de estos pirógenos al SNC. Este centro, al ponerse en contacto con los pirógenos circulantes, responde promoviendo la síntesis de prostaglandinas, principalmente de la clase E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). De aquí, a través de un mecanismo paracrino, los metabolitos de la ciclooxigenasa difunden hacia el hipotálamo y provocan la respuesta febril. Al inhibir la síntesis de prostaglandinas mediante la administración de AINE, se consigue revertir el estado de fiebre de una manera eficaz, mientras que los estados de hipertermia no responden a los antipiréticos ya que en su patogenia no se halla involucrado el aumento de la síntesis de prostaglandinas y el consecuente desajuste hipotalámico.

Los pirógenos exógenos son sustancias procedentes del exterior que inducen una respuesta febril. Habitualmente son componentes microbianos que

actúan sobre el sistema inmunitario, en particular el sistema mononuclear fagocítico, provocando la síntesis y la liberación de pirógenos endógenos, aunque en ocasiones actúan directamente sobre el hipotálamo. El más conocido y potente es el lipopolisacárido procedente de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, al que clásicamente se denomina endotoxina. Las bacterias grampositivas producen otros pirógenos como el peptidoglicano, el ácido lipoteicoico y diversas exotoxinas y enterotoxinas.<sup>15</sup>

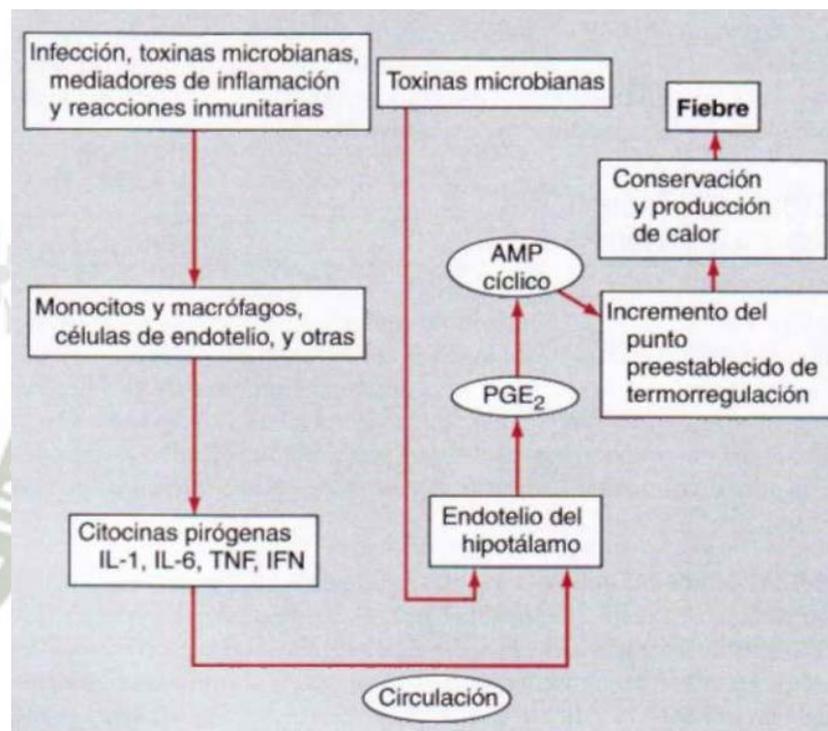


FIGURA N°2: EVENTOS PARA LA PRODUCCIÓN DE FIEBRE<sup>(15)</sup>

### 1.2.2.3 Antipiréticos endógenos

Se ha comprobado la existencia de una serie de sustancias que actúan sobre el hipotálamo contrarrestando los efectos de los pirógenos y que se producen en grandes cantidades durante la fiebre. Con ello se evita que ésta alcance valores perjudiciales para el organismo.

La ADH, que se encuentra significativamente elevada durante la fiebre, actúa sobre los receptores V 1 cerebrales y puede contrarrestar el efecto pirógeno provocado por la inyección intraventricular de prostaglandinas. No obstante, aún

existe un amplio debate sobre su posible mecanismo de acción. La hormona melanocitostimulante alfa (MSH- $\alpha$ ), un neuropéptido derivado de la molécula precursora proopiomelanocortina (POMC) cuya producción está inducida durante los períodos febriles, es capaz de contrarrestar la respuesta febril provocada por pirógenos en conejos, y tras la inyección de suero anti-MSH-a en ratones, induce una respuesta febril a la IL-1 más intensa y prolongada. También se le han atribuido efectos inmunodepresores e inhibidores de la respuesta de reactantes de fase aguda. Otros antipirógenos endógenos como la hormona liberadora de adrenocorticotropina (CRH), la ACTH y la somatostatina alteran la capacidad de los pirógenos endógenos para estimular la producción de prostaglandinas.<sup>15</sup>

#### 1.2.2.4 Significado biológico

La fiebre, presente incluso en animales de sangre fría, constituye un mecanismo adaptativo de respuesta para luchar contra las infecciones. En numerosos modelos animales de infección bacteriana se ha confirmado una mayor supervivencia en aquellos que mantienen una respuesta febril adecuada frente a los que poseen una respuesta febril artificialmente inhibida con antipiréticos. Algunas especies bacterianas, como el neumococo, son muy sensibles a las altas temperaturas ocasionadas por la fiebre. Asimismo, existen numerosos estudios que demuestran el aumento de diversas respuestas de defensa inmunitaria provocado por la elevación febril de la temperatura, como la actividad quimiotáctica, fagocitaria y bactericida de los neutrófilos y los efectos citotóxicos y proliferativos de los linfocitos.

No obstante, la fiebre no está exenta de efectos perjudiciales para el organismo. Ocasiona malestar general, artromialgias, anorexia y somnolencia, disminuye la agudeza mental y puede producir delirio, estupor y convulsiones en los niños. El incremento de 1° C en la temperatura provoca un aumento del 13 % en el consumo de oxígeno, así como del consumo calórico e hídrico, y un incremento del catabolismo proteico, sobre todo del músculo esquelético, con aumento del catabolismo de los aminoácidos liberados en la gluconeogénesis, de la síntesis de reactantes de fase aguda y de inmunoglobulinas. Durante el primer trimestre de embarazo la fiebre se asocia a una mayor incidencia de riesgos teratogénicos, entre

los que destacan los defectos de cierre del tubo neural. Los estados de hiperpirexia pueden provocar lesiones neurológicas irreversibles, sobre todo en ancianos o personas con enfermedad subyacente.<sup>10</sup>

### 1.2.3. Manifestaciones Clínicas

Desde el punto de vista semiológico, la fiebre muestra un doble aspecto ya que, además de constituir un signo, es percibida de forma subjetiva por el paciente y, por lo tanto, puede ser considerada como un síntoma o un conjunto de ellos. Existe además una serie de síntomas que, en mayor o menor grado, suelen asociarse a la fiebre, como escalofríos, que preceden a la elevación térmica; artromialgias; sudación, que se manifiesta con mayor intensidad en la defervescencia de la fiebre; astenia y anorexia; somnolencia, y, en ocasiones, convulsiones.<sup>10</sup>

La fiebre suele representarse gráficamente en función de la temperatura alcanzada y la hora del registro, dando lugar a diversos patrones con un relativo valor clínico. Se habla de fiebre cuando la temperatura oscila entre 37,5 y 40 ° C, y de hiperpirexia si es superior a 40 ° C. En cuanto a la forma de inicio, puede ser brusca, en apenas minutos, o lenta e insidiosa, durante horas y días. Puede finalizar de forma brusca y con sudación profusa (crisis) o de forma lenta (lisis):<sup>10</sup>

- Fiebre continua. Las oscilaciones diarias son inferiores a 1 ° C.
- Fiebre remitente. Las oscilaciones diarias son superiores a 1 ° C, sin llegar nunca a límites normales.
- Febrícula. La elevación térmica diaria es inferior a 38 ° C.
- Fiebre intermitente. Se alternan días de fiebre con otros de normalidad, pero con un ritmo fijo.
- Fiebre recurrente. Se alternan períodos de fiebre continua con otros de normalidad; en los casos de infección por *Plasmodium*, se habla de fiebre terciana o cuartana según que el período de recurrencia sea de 72 o 96 horas. La fiebre de Pel-Ebstein, que dura 3-10 días y cede durante otros 3-10 días, es típica de la enfermedad de Hodgkin.

- Fiebre hética (en agujas). La temperatura experimenta grandes oscilaciones a lo largo del día, con picos elevados y descensos profundos por debajo incluso de lo normal; es típico de los procesos supurativos o sépticos.

La medida más representativa de la temperatura corporal central corresponde a la de la sangre venosa de la aurícula derecha, que es prácticamente idéntica a la de la sangre arterial, y puede medirse en pacientes monitorizados. También es posible registrar dicha temperatura de forma muy precisa en el esófago. Sin embargo, en ámbitos clínicos la temperatura rectal suele considerarse la medida más exacta de la temperatura corporal central, aunque está sometida a posibles fluctuaciones del flujo sanguíneo local.<sup>10</sup>

La fiebre desencadena una serie de respuestas en el huésped que se engloban bajo el nombre de respuesta de la fase aguda. Sin embargo, estos cambios no son exclusivos de la fiebre y, de hecho, se presentan como consecuencia de traumatismos, quemaduras, intervenciones quirúrgicas, algunas enfermedades sistémicas como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide, y en enfermedades malignas. La respuesta del organismo ante la fiebre se asocia a cambios en los distintos órganos y sistemas. La denominación «aguda», indica que dichas alteraciones aparecen a las pocas horas de comenzar la fiebre, aunque algunos de estos cambios pueden mantenerse durante todo el tiempo que persiste la enfermedad. A las pocas horas del comienzo de la fase aguda, el hígado incrementa notablemente la síntesis de algunas proteínas, como haptoglobina, factores del complemento, ceruloplasmina, antiproteasas y fibrinógeno, pero sobre todo de los reactantes de fase aguda: amiloide A (un precursor de las fibrillas de amiloide en la amiloidosis secundaria) y la proteína C reactiva. La presencia de ambos es un indicador de enfermedad; la proteína C reactiva es particularmente útil porque puede cuantificarse en el laboratorio. No se conoce suficientemente el papel protector que desempeñan estas proteínas en la defensa del huésped. Algunos estudios sugieren que la proteína C reactiva es capaz de opsonizar al neumococo, mientras que la proteína sérica amiloide A tendría un efecto inmunosupresor. No obstante, parece fuera de toda duda que estas proteínas tienen un importante papel en la supervivencia del paciente. A pesar de este incremento en la síntesis proteica, la

fase aguda se acompaña de un aumento del catabolismo proteico muscular que, junto con la pérdida de energía y el aumento de la gluconeogénesis, explican, parcialmente, la pérdida de peso.<sup>10</sup>

Los niveles séricos de hierro se encuentran disminuidos debido, en parte, al aumento de los niveles de lactoferrina, procedente de los gránulos de los neutrófilos; dado que la lactoferrina tiene más afinidad por el hierro que la transferrina, se une en mayor cantidad, produciendo un incremento de sus depósitos y un aumento de la transferrina. El resultado final es una anemia normocítica normocrómica, pero con depósitos normales de hierro. Este hecho se produce por el efecto supresor del TNF sobre la hematopoyesis. La ferropenia, a su vez, tiene un efecto protector, pues inhibe el crecimiento de algunos gérmenes y células tumorales que utilizan el hierro como factor de crecimiento.<sup>10</sup>

#### **1.2.4. Tratamiento**

A pesar de que la fiebre ocasiona posibles beneficios sobre la resistencia a infecciones en la experimentación in vivo animal e incluso in vitro humana, no existen datos claros sobre el efecto beneficioso práctico de la fiebre en la infección humana. Además de alterar su posible efecto terapéutico, el tratamiento de la fiebre puede enmascarar información sobre el patrón evolutivo del proceso y la respuesta real al tratamiento etiológico. También es necesario tener en cuenta que los medicamentos empleados en el tratamiento de la fiebre no están exentos de efectos secundarios. Por otra parte, no se puede olvidar que la fiebre ocasiona molestias clínicas que pueden ser aliviadas con el tratamiento antipirético. No obstante, en la práctica clínica con frecuencia la fiebre se trata de una forma rutinaria, atribuyéndose más importancia al aspecto cuantitativo que al cualitativo y prescribiendo tratamientos para obtener la apirexia sin valorar la percepción de malestar del paciente, que no siempre se corresponde linealmente con su valor cuantitativo. En primer lugar le corresponde al clínico determinar cuál es la causa de la fiebre y, sobre todo, diferenciarla de la hipertermia, ya que ésta plantea un tratamiento diferente. La hipertermia es secundaria a una incapacidad para disipar el calor generado por el organismo y, a diferencia de la fiebre, al no estar involucradas

las prostaglandinas en su génesis, los inhibidores de la ciclooxigenasa poseen un efecto terapéutico nulo.<sup>15</sup>

### **1.2.5. Situaciones clínicas asociadas a la fiebre**

#### **1.2.5.1 Hipertermia maligna**

Suele afectar a pacientes sometidos a anestesia general con anestésicos inhalados, como el halotano, junto a agentes paralizantes despolarizantes, como la succinilcolina. Es producida por una mutación de los canales del calcio del retículo sarcoplásmico del músculo esquelético, que provoca rigidez, catabolismo muscular, fiebre, acidosis y rbdomiólisis. Debe suspenderse inmediatamente la anestesia y comenzar tratamiento con medidas antitérmicas físicas y dantroleno sódico, un antiespástico que inhibe la contracción muscular.<sup>15</sup>

#### **1.2.5.2 Síndrome neuroléptico maligno**

Es una grave reacción, poco frecuente, que aparece con dosis altas de neurolépticos. Se caracteriza por rigidez muscular, disregulación autónoma, hipertermia y, a veces, mioglobulinemia. Parece deberse a una inhibición de los receptores dopaminérgicos centrales del hipotálamo, que determina un aumento de la termogénesis y una disminución de su disipación. Requiere el empleo de medidas físicas, dantroleno e, incluso, bromocriptina como agonista dopaminérgico.

#### **1.2.5.3 Hiperpirexia**

Se denomina así a los estados febriles con temperaturas superiores a 40 °C. Puede observarse en infecciones graves y, sobre todo, en episodios hemorrágicos del SNC. Se han de emplear medidas físicas y antipiréticos, dado que el uso exclusivo de medidas físicas puede ser contraproducente, ya que los termorreceptores periféricos del frío estimulan el hipotálamo induciendo una respuesta de vasoconstricción periférica que evitaría la disipación de calor a través de la piel.<sup>15</sup>

#### **1.2.5.4 Convulsiones febriles**

No se sabe con certeza cuál es el desencadenante de estos episodios convulsivos en los niños. La experiencia muestra un mejor pronóstico cuando se asocia a temperaturas muy altas que cuando éstas son moderadas. En estudios experimentales se ha implicado a la ADH como factor desencadenante de estos episodios. En cualquier caso, la actitud ha de ser un decidido, aunque no brusco, tratamiento antitérmico, empleando medidas físicas y farmacológicas, anticonvulsivantes y, eventualmente, profilaxis anticomicial.<sup>15</sup>

#### **1.2.5.5 Gestación**

Durante el embarazo se ha implicado a la fiebre como causa de malformaciones fetales y abortos espontáneos tanto en animales como en el hombre, sobre todo en el primer trimestre de la gestación. Un episodio aislado de fiebre superior a 37,8 °C en este período duplica el riesgo de defectos en el desarrollo del tubo neural. No existen estudios suficientes como para recomendar el tratamiento antipirético preventivo de estas alteraciones, pero sí están indicadas medidas farmacológicas y/o físicas.<sup>15</sup>

#### **1.2.5.6 Compromiso cardiopulmonar**

En pacientes con enfermedad cardíaca o respiratoria subyacente, el mayor consumo energético y de oxígeno que provoca el estado febril obliga a plantearse el tratamiento antitérmico para evitar posibles descompensaciones.<sup>15</sup>

#### **1.2.5.7 Alteración de la función cerebral**

Las temperaturas elevadas pueden inducir deterioro mental en los pacientes con enfermedades cerebrales orgánicas. Estas situaciones no deben confundirse con los estados delirantes que acompañan a muchos procesos febriles, sobre todo infecciosos, en personas sanas, que parecen estar relacionados con una respuesta de estrés inducida por el cortisol y otras sustancias.<sup>15</sup>

#### 1.2.5.8 Fiebre por fármacos

Casi todos los fármacos poseen la capacidad potencial de inducir fiebre, pero algunos, como las penicilinas, la a-metildopa, la quinidina, los antineoplásicos o los anticomiciales, la producen con mucha mayor frecuencia que otros. Generalmente se llega a un diagnóstico de exclusión, que se confirma cuando se observa la desaparición de la fiebre unas 48-72 horas tras la retirada del fármaco presuntamente pirogénico. Estas reacciones obedecen habitualmente a efectos farmacológicos del principio activo o de su preparado, a manifestaciones idiosincrásicas propias o a complicaciones relacionadas con la administración, como flebitis, absceso estéril o intolerancia química local. Existe una amplia variabilidad en el tiempo que transcurre entre el comienzo de la administración del fármaco y la aparición de la fiebre, que puede fluctuar entre horas, días o incluso semanas. En raras ocasiones se asocia a otras manifestaciones que sugieran un mecanismo alérgico, como erupciones, eosinofilia o hipotensión.<sup>10</sup>

#### 1.2.6. Manejo terapéutico de la fiebre

En la práctica clínica hay dos categorías terapéuticas que a menudo pueden utilizarse de forma combinada: las medidas físicas y las farmacológicas. Las segundas incluyen los AINE (paracetamol, ácido acetilsalicílico, indometacina) y los corticoides. Estos agentes farmacológicos no sólo contribuyen al descenso térmico, sino que sus otras propiedades antiinflamatorias y analgésicas proporcionan una mejoría sintomática del enfermo.

##### 1.2.6.1 Medidas físicas

Consisten en inmersiones en agua fría, aplicaciones frecuentes de agua sobre la superficie cutánea mediante esponjas o la colocación de toallas, sábanas o paños húmedos sobre el cuerpo del enfermo. Se consigue una rápida reducción de la temperatura corporal mediante la aplicación de esponjas empapadas en alcohol, la inmersión en agua fría o, en casos de emergencia, lavados gástricos o enemas con agua helada, administración intravenosa o intraperitoneal de fluidos fríos o, incluso,

con la aplicación de circulación extracorpórea. Estos métodos, comenzando por los más convencionales, han de utilizarse siempre en los estados de hipertermia, aunque también son convenientes en la hiperpirexia y otros estados febriles graves siempre que se acompañen de tratamiento farmacológico, pues de lo contrario tendrían un efecto contraproducente.

#### **1.2.6.2 Medidas farmacológicas**

Se persigue la inhibición de la enzima ciclooxigenasa, causante de la producción de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico presente en la membrana celular. No provocan un descenso de la temperatura por debajo de la normalidad ya que las prostaglandinas no modifican el ritmo circadiano. El paracetamol es un débil inhibidor periférico de la ciclooxigenasa, que sufre una oxidación en el SNC aumentando notablemente su efecto inhibidor en esta localización, lo que explica su importante efecto antitérmico y su escaso efecto antiinflamatorio. El ácido acetilsalicílico ha de usarse con cautela en los niños con infecciones víricas dada su implicación en la enfermedad de Reye; el ibuprofeno puede sustituirlo sin riesgos. Los glucocorticoides inhiben la síntesis de PGE<sub>2</sub> por bloqueo de la fosfolipasa A<sub>2</sub> y, además, bloquean la transcripción del mRNA de citocinas pirogénicas como la IL-1 y el TNF. Sin embargo, los efectos inmunodepresores y antifagocitarios de los corticoides restringen su uso a procesos en los que el efecto inflamatorio es predominante. El tratamiento de los escalofríos que acompañan a algunos tipos de fiebre suele basarse en opiáceos como la meperidina o el sulfato de morfina y en neurolépticos del tipo de la clorpromazina. La asociación de ambos tipos de fármacos posee un efecto aditivo.<sup>10</sup>

### 1.3. FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO SINTOMÁTICO DE LA FIEBRE

Los fármacos utilizados para el tratamiento sintomático de la fiebre son los analgésicos no esteroides o AINE. La acción antitérmica del ácido acetil salicílico y otros aines que se describen a continuación se explica, principalmente, por su capacidad de disminuir las concentraciones centrales de PGE<sub>2</sub>. Un caso especial es el del paracetamol, que posee efectos analgésicos y antitérmicos notables, pero no efectos antiinflamatorios. Su efecto antitérmico parece depender de la inhibición preferente de la COX-2 central o de una variante de esta isoforma (¿tal vez una COX-3?), en función de su buena penetración en el SNC y su dependencia de un entorno, como el neuronal, bajo en peróxidos. Además los salicilatos y el ibuprofeno, pero no el paracetamol, son capaces de reducir la producción de PGE<sub>2</sub>, mediante reducción de la translocación nuclear del NF-κB y la consiguiente represión de la expresión de la COX-2.

Un mecanismo central adicional adicional puede ser la liberación de sustancias antitérmicas endógenas, como la arginina-vasopresina. En este sentido el efecto antitérmico de los salicilatos y la indometacina es bloqueado por antagonistas del receptor V<sub>1</sub>. Entre los efectos periféricos que podrían contribuir al efecto antitérmico se encuentran el aumento de la producción de moléculas antiinflamatorias (adenosina o lipoxina A<sub>4</sub>), la disminución de la producción de citosinas pirógenas (TNF o IL-1β) o la reducción de la expresión de moléculas de adhesión.<sup>16</sup>

#### 1.3.1.SALICILATOS

##### 1.3.1.1 Ácido Acetilsalicílico

A pesar de la introducción de nuevos fármacos, el ácido acetilsalicílico (aspirina) es el antiinflamatorio y analgésico-antipirético más recetado y constituye el compuesto estándar en la comparación y evaluación de otros productos. Sólo en EEUU se consumen en promedio, de 10000 a 20000 toneladas cada año.<sup>26</sup>

La aspirina es un analgésico *casero* más común, aunque dado que es posible conseguirlo sin problemas, quizá no se advierte las consecuencias graves que se pueden originar por su mal uso y abuso y efecto tóxicos graves, y puede ser causa frecuente de intoxicación en niños, que a veces causa la muerte.<sup>26</sup>

#### **1.3.1.1.1 Farmacocinética**

La aspirina es un ácido débil, en general los salicilatos son ácidos orgánicos que se absorben con rapidez en el estómago y en la porción superior de intestino delgado, lo que origina una concentración máxima en plasma de estos fármacos en 1 a 2 horas. Esto debido a que en el estómago la aspirina se encuentra no ionizada lo que promueve su absorción por difusión simple

La aspirina se absorbe como tal y se hidroliza a ácido acético y salicilato (metabolito activo) por las esterasas localizadas en la mucosa del TGI y del hígado (efecto de primer paso). El salicilato se fija intensamente a las proteínas plasmáticas y es metabolizado en el hígado. Pero este grado de metabolización va a ser dependiente de la forma farmacéutica en que se presente la aspirina, así, en formas efervescente la absorción es más rápida y la metabolización se reduce, en cambio en formas de liberación controlada la absorción es más lenta pero la metabolización es mayor. De lo que deducimos que el metabolismo de la aspirina es saturable, ya que a mayor dosis disminuye su metabolismo y aumenta su tiempo de vida media. Los alimentos retrasan pero no impiden la absorción de la aspirina.<sup>03</sup>

El salicilato para su posterior eliminación sufre procesos de fase I y II obteniéndose como metabolitos inactivos a: 1) su conjugado con ácido glucorónico, 2) conjugado con glicina y 3) productos provenientes de la oxidación del salicilato. Además parte se elimina por la orina en forma de salicilato libre.<sup>26</sup>

El AAS se excreta principalmente por la orina en forma de conjugados de salicilato.

La alcalinización de la orina aumenta la velocidad de excreción del salicilato libre y sus congéneres solubles en agua.<sup>26</sup>

### **1.3.1.1.2 Dosis antipirética**

Dosis *antipirética* óptima de la aspirina es menor a 600 mg por vía oral que casi siempre se emplea (incluso a dosis única). Dosis más altas pueden prolongar el efecto. La dosis usual es de 500 mg cada 4 a 6 horas y es posible administrar dosis más bajas 300 mg cada tres horas. La dosis máxima es de 8 comprimidos de 500 mg diarios.<sup>03</sup>

### **1.3.1.1.3 RAMS**

A la dosis usual, el principal efecto adverso de la aspirina es el malestar gástrico (intolerancia). Este efecto puede reducirse con un amortiguamiento adecuado (ingiriendo la aspirina con alimentos, seguida de un vaso de agua o antiácidos). La gastritis que se presenta con la aspirina tal vez se deba a la irritación de la mucosa gástrica por la tableta no disuelta, la absorción en el estómago de salicilato no ionizado o la inhibición de producción de prostaglandinas de protección. Esta rémora puede mitigarse mediante formas de liberación controlada o tabletas efervescentes tamponadas. Las primeras promueven la total absorción a nivel del duodeno y las segundas facilitan su total absorción por la dilución previa. Para la total dilución y reducir la cantidad de AAS presente en tabletas o cápsulas en la mucosa gástrica se recomienda la ingesta con un vaso entero de agua o leche.<sup>19</sup>

Las dosis altas antiinflamatorias pueden provocar tinnitus.

Su uso está contraindicado en niños menores de 12 años con procesos virales (gripe o varicela) ya que pueden desarrollar Síndrome de Reye que es una encefalopatía aguda con degeneración grasa del hígado.<sup>19</sup>

## **1.3.2.DERIVADOS DEL PARAAMINOFENOL: ACETAMINOFEN**

### **1.3.2.1 Paracetamol**

Primero hay que aclarar que en sentido estricto el paracetamol no es un AINE ya que desde un punto de vista clínico carece de acción antiinflamatoria.

El acetaminofen o paracetamol es el metabolito activo de la fenacetina, un analgésico derivado de la anilina. Esta última fue retirada del mercado por su toxicidad renal. A este grupo también pertenece la fenazopiridina que por su elevada eliminación renal en forma activa es utilizada como analgésico de vías urinarias.<sup>03</sup>

El acetaminofen es un fármaco eficaz que puede utilizarse en vez de la aspirina como analgésico antipirético; sin embargo es poca su actividad antiinflamatoria y por ello no es útil para combatir dolores con marcado componente inflamatorio. El acetaminofen es bien tolerado y no genera muchos de las RAM de la aspirina y puede obtenerse sin receta, razón por la cual ha ocupado un sitio destacado como analgésico casero común. Con todo, la sobredosis aguda ocasiona lesión hepática letal, y en años recientes ha crecido de manera alarmante el número de autointoxicaciones y suicidios con dicho fármaco. Además, muchos sujetos, incluidos médicos no se percatan de la poca actividad antiinflamatoria del acetaminofen.<sup>03</sup>

#### **1.3.2.1.1 Farmacocinética**

Después de ingerir el acetaminofen, éste se absorbe de manera rápida y casi completa del TGI, siendo la velocidad de absorción dependiente del vaciamiento gástrico. Su concentración plasmática llega a un máximo en 30 a 60 min y la vida media en plasma es unas 2 horas después del consumo de dosis terapéuticas, con una biodisponibilidad de 88%, pudiendo ser interferida su absorción por la presencia de alimentos ricos en carbohidratos.<sup>25</sup>

El acetaminofen se distribuye de manera relativamente uniforme en casi todos los líquidos corporales. Es variable la unión de este fármaco a las proteínas plasmáticas, y solo un 20 a 50% pueden ligarse en las concentraciones que se detectan durante la intoxicación aguda. Atraviesa la placenta y aparece en la leche materna.

El acetaminofen sufre metabolismo de primer paso en las células del intestino y los hepatocitos. Bajo circunstancias normales, el acetaminofen es conjugado en el hígado en metabolitos sulfatados y glucoronidos inactivos. Una pequeña porción del acetaminofen es hidroxilado por los Citocromos P-450 a N-

acetil-para-benzoquinoneimina (NAPQI), este compuesto presenta alta reactividad con grupos sulfidrilo, y es de alto potencial de toxicidad, pero a dosis normales, el NAPQI reacciona con grupos sulfidrilo del glutatión hepático, para formar ácido mercápturico una metabolito no tóxico.

Después de dosis terapéuticas en orina es posible identificar 90 a 100% del fármaco, en las primeras 24 horas, sobre todo después de la conjugación hepática con ácido glucorónico. Los niños muestran menor capacidad de glucoronidación del acetaminofen que los adultos, sin embargo tienen una mayor capacidad de depurar a NAPQI.<sup>25</sup>

#### **1.3.2.1.2 Dosis antipirética<sup>03</sup>**

*Adultos:* Comprimidos orales

- En adultos y adolescentes: 1 a 2 tabletas de 500 mg cada 6 – 8 horas.

*Infantes:* Solución oral en gotas.

- En menores de 3 meses 8 gotas cada 4 a 6 horas
- En menores de 4 a 11 meses 10 a 20 gotas cada 4 a 6 horas

*Niños:* Supositorios y jarabe.

- En niños de 1 a 6 años 1 supositorio cada 12 horas.
- En niños de 4 a 5 años 5 ml cada 4 a 6 horas
- En niños de 6 a 8 años 7,5 ml cada 4 a 6 horas
- En niños de 9 a 12 años hasta 10 ml cada 4 a 6 horas

#### **1.3.2.1.3 RAMS**

A dosis terapéuticas el paracetamol es posiblemente uno de los analgésicos y antitérmicos más seguros, siendo muy baja la incidencia de reacciones adversas, suelen manifestarse reacciones alérgicas como dermatitis o rash cutáneo. Por encima de 2 gr diarios se aprecian ocasionalmente complicaciones similares a las de los

AINE clásicos. A veces se observan ligeros aumentos de enzimas hepáticas sin ictericia. No hay hipersensibilidad cruzada con salicilatos. Por su abuso crónico puede aparecer nefrotoxicidad. Lo que reviste importancia sin duda es la toxicidad aguda con necrosis hepática grave.<sup>26</sup>

### 1.3.3.DERIVADOS PIRAZÓLICOS

En este grupo se encuentran algunos de los fármacos más antiguos utilizados como analgésicos en terapéutica. Con fines preferentemente analgésico y antitérmico se emplean el *metamizol* o *dipirona* y la *propifenazona*.

#### 1.3.3.1 Metamizol

##### 1.3.3.1.1 Farmacocinética

El metamizol se absorbe bien por vía oral, alcanzando concentraciones pico a las 1.5 horas. Sufre efecto de primer paso en el TGI, obteniéndose como metabolito activo a la 4-metilaminoantipirina (4MAA), luego sufre metabolismo en el hígado para obtenerse 4-aminoantipirina (4AA), posteriormente esta aminoantipirina se metaboliza a 4-formilaminoantipirina (4-FAA) y otros metabolitos que son inactivos. El TVM de sus metabolitos activos es de 2-4 horas en promedio de cada uno. Se distribuye mediante unión a proteínas plasmáticas en un 58%. Se excreta por vía renal en un 90% como metabolitos inactivos y el resto como activos.

##### 1.3.3.1.2 Posología<sup>03</sup>

Tratamiento del dolor moderado, cefalea y fiebre

- Adultos y adolescentes: 500 mg cada 6 horas
- Niños (a partir de 3 meses): 1 gota por kg de peso  
1 supositorio cada 12 horas.
- Niños: 6-12 años: 2,5-5 ml cada 6 horas

### 1.3.3.1.3 RAMS

Este fármaco es muy conocido en otros países – sobre todo europeos – por su potencial de producir agranulocitosis; es más no se comercializa en dichos país desde hace mucho tiempo, sin embargo en el Perú su comercialización se mantiene, debido principalmente a que los latinoamericanos tienen menor susceptibilidad genética a desarrollar dicha ram.

En comparación con el AAS, la dipirona es menos gastrolesiva, y el riesgo hemorrágico también es menor debido a su inhibición COX reversible. Por vía parenteral puede provocar hipotensión, complicaciones renales, coloración rojiza de la orina, náuseas palpitaciones. La intoxicación aguda puede provocar convulsiones, coma parada respiratoria e insuficiencia hepática.<sup>26</sup>

### 1.3.4.DERIVADOS INDOLACÉTICOS

La indometacina fue producto de los esfuerzos de laboratorios en busca de fármacos con propiedades antiinflamatorias. Fue introducido en 1963 para tratar artritis reumatoide y trastornos similares. A pesar de que el fármaco se utilizó ampliamente y es eficaz, su toxicidad suele limitar su empleo. Luego de la metabolización de la *acemetacina* se obtiene como metabolito a la *indometacina*. El etodolaco es uno de los antiinflamatorios más recientes. La indometacina y acemetacina muestran escasa selectividad para inhibir a las COX, pero se ha observado que el etodolaco muestra una inhibición medianamente selectiva de COX-2. La *glucametacina* (o indometacina glucosilada) es un derivado de la indometacina. Todos estos fármacos tienen en común una ram paradójica, y es la de producir cefalea. Si bien es que pueden ser utilizados en todas las indicaciones de los AINE en general debido a su toxicidad su uso debe limitarse al tratamiento de enfermedades articulares.<sup>25</sup>

### 1.3.4.1 Indometacina

#### 1.3.4.1.1 *Farmacocinética*

Después de ingerida, la indometacina se absorbe de manera rápida y casi completa por el tubo digestivo.

La concentración máxima en plasma se alcanza en término de 2 horas en el sujeto en ayuno, pero puede tardar un poco más si el medicamento se ingiere después de las comidas; en general el medicamento puede ser administrado con o después de las comidas para contrarrestar la irritación gástrica.

Se distribuye en todo el organismo, y alcanza concentraciones similares a la plasmática en el líquido sinovial al cabo de 5 horas.

La indometacina es convertida primordialmente en metabolitos inactivos, mediante reacciones de hidrólisis y conjugación en el hígado.

#### 1.3.4.1.2 *Dosis antipirética*<sup>03</sup>

Proceso febril resistente a otros tratamientos

- De 25-50 mg cada 6 o cada 8 horas.

#### 1.3.4.1.3 *RAMS*

La principal son cefaleas frontales en un 25 a 50% de pacientes tratados en periodos prolongados. Otras de las reacciones adversas están relacionadas con la dosis, a altas dosis se generan complicaciones gastrointestinales que consisten en anorexia, náusea y dolor abdominal. Se han señalado úlceras solas o múltiples en toda la parte alta del tubo digestivo, a veces con hemorragia y perforaciones. Estas reacciones indeseables hacen que un 20% de pacientes abandonen el tratamiento con este fármaco. Por ello se recurre a la indometacina después de haber utilizado otros AINE, salvo en la espondilitis anquilosante en la que es el fármaco de primera elección.

### 1.3.5.DERIVADOS DEL ÁCIDO PROPIÓNICO

Los derivados del ácido propiónico constituyen un grupo heterogéneo de sustancias pero con caracteres farmacológicos homogéneos, el primero en ser sintetizado fue el ibuprofeno, luego en orden cronológico el naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno y ácido triaprofénico. Sin embargo en nuestro medio actualmente está disponible el ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno. Su eficacia farmacológica es similar a los salicilatos y presenta ventajas frente a la indometacina por su mejor tolerancia. En general farmacodinámicamente no difieren, lo que los diferencia son sus características farmacocinéticas y mejor tolerancia que muchos AINES.

En conclusión las semejanzas entre todos los miembros de esta clase son más notables que las diferencias.

#### 1.3.5.1 Ibuprofeno

El ibuprofeno fue el primer fármaco sintetizado de este grupo, presenta buena potencia antiinflamatoria ya que 2,4 g de ibuprofeno al día equivalen a 4 g diarios de aspirina.

##### 1.3.5.1.1 Farmacocinética

Después de ingerido el ibuprofeno se absorbe con rapidez, y en 15 a 30 minutos se alcanzan concentraciones máximas en plasma, su vida media es de 2 horas, se distribuye unido ampliamente a proteínas plasmáticas 99%, alcanza una biodisponibilidad de 80%. Se metaboliza en el hígado y se excreta mayormente en la orina en gran parte en forma de metabolitos y solo 1% intacto.

##### 1.3.5.1.2 Dosis antipirética <sup>(03)</sup>

Procesos dolorosos no reumáticos y fiebre (<2,4 g día)

- Adultos: 200-400 mg 4-6 horas.

Fiebre en niños mayores 6 meses

- 2,5 – 5 ml cada 4-6 horas (o 10 mg /kg/día).

### **1.3.5.1.3 RAMS**

A las dosis más bajas (como analgésico y antipirético) es bien tolerado, sin embargo a dosis más altas (antiinflamatorio, antirreumático) puede producir las mismas reacciones adversas que otros AINE.

Además de las reacciones adversas sobre el estómago – que puede atenuarse administrándolo con los alimentos – se han acusado exantema, prurito, retención de líquidos, broncoespasmo y cefalea.

### **1.3.5.2 Naproxeno**

#### **1.3.5.2.1 Farmacocinética**

Se absorbe rápidamente desde el TGI, los alimentos pueden disminuir su absorción, circula unido a las proteínas plasmáticas en un 99%, es importante saber que este grado de unión a proteínas plasmáticas es saturable ya que a medida que aumenta la dosis (por ejemplo si el paciente consume más 750 mg al día), se alcanza una meseta en la concentración de la forma ligada, sin embargo la forma no ligada sigue incrementándose, de allí que en el caso del naproxeno se recomiende una dosis inicial que debe ser disminuida posteriormente. Presenta un TVM de 14 horas.

La sal sódica alcanza una concentración máxima en 1-2 horas, la base en el doble de este tiempo. Se metaboliza en el hígado por desmetilación y conjugación y se elimina completamente por la orina (<1% sin metabolizar).

#### **1.3.5.2.2 Dosis antipirética <sup>(03)</sup>**

Procesos dolorosos (musculares, odontalgias), dismenorrea y fiebre

- Adultos: dosis inicial de 500 mg seguido de 250 mg cada 6-8 horas.

### **1.3.5.2.3 RAMS**

Sobre todo a nivel gastrointestinal desde dispepsia y pirosis, hasta náuseas hemorragias. A nivel central puede producir cefaleas, mareo, fatiga depresión y ototoxicidad. Las especialidades farmacéuticas que contienen sales sódicas deben evaluarse en pacientes que tienen restricción de este catión, en cuanto ingesta.

## **1.3.6.DERIVADOS DEL ÁCIDO FENILACÉTICO**

### **1.3.6.1 Diclofenaco**

Este fármaco es de frecuente prescripción y automedicación, siendo su eficacia comparable a los arilpropiónicos o profenos.

#### **1.3.6.1.1 Farmacocinética**

Después de la ingestión el diclofenaco se absorbe de manera rápida y casi completa, y en plasma se alcanzan concentraciones máximas en 1 a 2 y por vía IM en 20 minutos. Su  $t_{1/2}$  es de 1 hora, pasa al líquido sinovial donde alcanza una concentración menor a la del plasma pero más sostenida, de donde se deduce la duración de sus efectos más prolongados a los que abría de esperarse por su tiempo de vida media. La administración con alimentos retrasa pero no disminuye su absorción, sufre notable efecto de primer paso que disminuye su biodisponibilidad en un 50%, se une ampliamente a las proteínas plasmáticas (99%), se metaboliza en el hígado sufriendo reacciones de hidroxilación, metoxilación y conjugación; y es excretado en la orina (65%) y bilis (35%).

#### **1.3.6.1.2 Dosis antipirética <sup>(03)</sup>**

Procesos dolorosos o inflamatorios no reumáticos, fiebre y dismenorrea.

- Dosis de 50 mg cada 8 horas (también se puede administrar como dosis inicial 100 mg). El periodo de tratamiento del dolor no debe superar los 5 días y para la fiebre 3 días.

### ***1.3.6.1.3 RAMS***

El diclofenaco produce reacciones adversas similares a los profenos. Puede alterar temporalmente la función hepática. Se ha detectado casos de anemia aplásica.





## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. MATERIALES

##### 2.1.1.MATERIAL DE ESTUDIO

###### 2.1.1.1 Hojas de escorzonera

Como material de estudio, se utilizaron las hojas de la planta medicinal conocida comúnmente como escorzonera, cuyo nombre científico es *Perezia multiflora*.

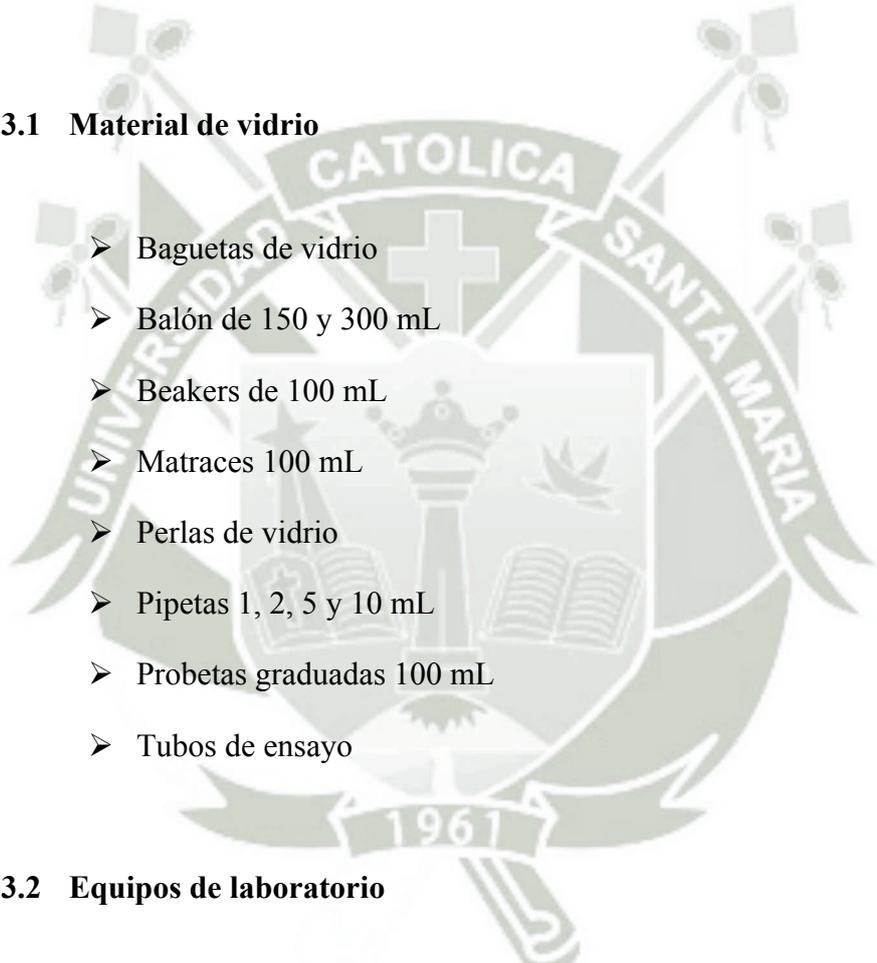
##### 2.1.2.MATERIAL BIOLÓGICO

### 2.1.2.1 Ratas albinas

Se utilizaron 25 ratas albinas pertenecientes a la especie *Ratus rattus*, con edades comprendidas entre los 2 a 5 meses, y peso promedio de 243 gramos; todas provenientes del Bioterio de la Universidad Católica Santa María.

## 2.1.3. MATERIAL DE LABORATORIO

### 2.1.3.1 Material de vidrio

- 
- Baguetas de vidrio
  - Balón de 150 y 300 mL
  - Beakers de 100 mL
  - Matraces 100 mL
  - Perlas de vidrio
  - Pipetas 1, 2, 5 y 10 mL
  - Probetas graduadas 100 mL
  - Tubos de ensayo

### 2.1.3.2 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica (Ohaus), modelo pioneer
- Manta eléctrica
- Equipo de destilación continua soxhlet (Pyrex)
- Estufa de desecación (Memmert), typ U 15
- Lámpara de luz UV (Camag)

- Mechero Bunsen
- Frigorífico
- Equipo rotatorio de destilación al vacío (Buchi), type R-II

### 2.1.3.3 Reactivos

- Acetato de etilo (Merck)
- Ácido acético (JT Baker al 99.80%)
- Ácido fórmico (Labachiemin al 98%)
- Ácido sulfúrico (Merck 95–97%)
- Agua destilada
- Cloruro de aluminio (Riedel de Haen al 97%)
- Cloruro férrico (Nequimsa)
- Etanol (Fermont al 99.8%)
- Metanol (Puriquim Rergent 99.7%)
- Tolueno (JT Baker al 99.97%)
- Vainillina (Nequimsa)

### 2.1.3.4 Material farmacológico

- *Saccharomyces cerevisae* (Farma Recetas)
- Paracetamol (Gesidol MKT Pharma)

### 2.1.3.5 Otros

- Algodón

- Capilar de vidrio
- Cinta adhesiva
- Espátulas
- Frasco de vidrio color oscuro
- Guantes quirúrgicos
- Jeringa de 10 mL
- Mascarilla y gorro de laboratorio
- Papel filtro
- Plumón marcador
- Sonda orogástrica
- Termómetros rectales

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. Preparación de la escorzonera (*Perezia multiflora*) para la obtención del extracto

#### 2.2.1.1 Recolección

Se adquirió la planta medicinal en un mercado local escogiendo los ejemplares que se encontraban en buen estado y de aparente estado óptimo de conservación y madurez.

#### 2.2.1.2 Selección

Se seleccionó cuidadosamente las hojas del resto del vegetal, prescindiendo las raíces y flores que se encontraban presentes.

### **2.2.1.3 Estabilización**

El material vegetal (hojas) se colocó en bandejas y se sometió a calor seco en la estufa a una temperatura de 80 °C por 4 minutos para que no se produzca la desnaturalización de los principios activos.

### **2.2.1.4 Deseccación**

El material vegetal (hojas) ya estabilizado fue dispuesto en bandejas nuevamente para ser colocados en la estufa pero a una temperatura de 50 °C durante 6 horas. En estas condiciones las hojas se encontraban listas para el siguiente procedimiento de molienda.

## **2.2.2. Obtención de los extractos**

### **2.2.2.1 Método de extracción continua: Soxhlet.**

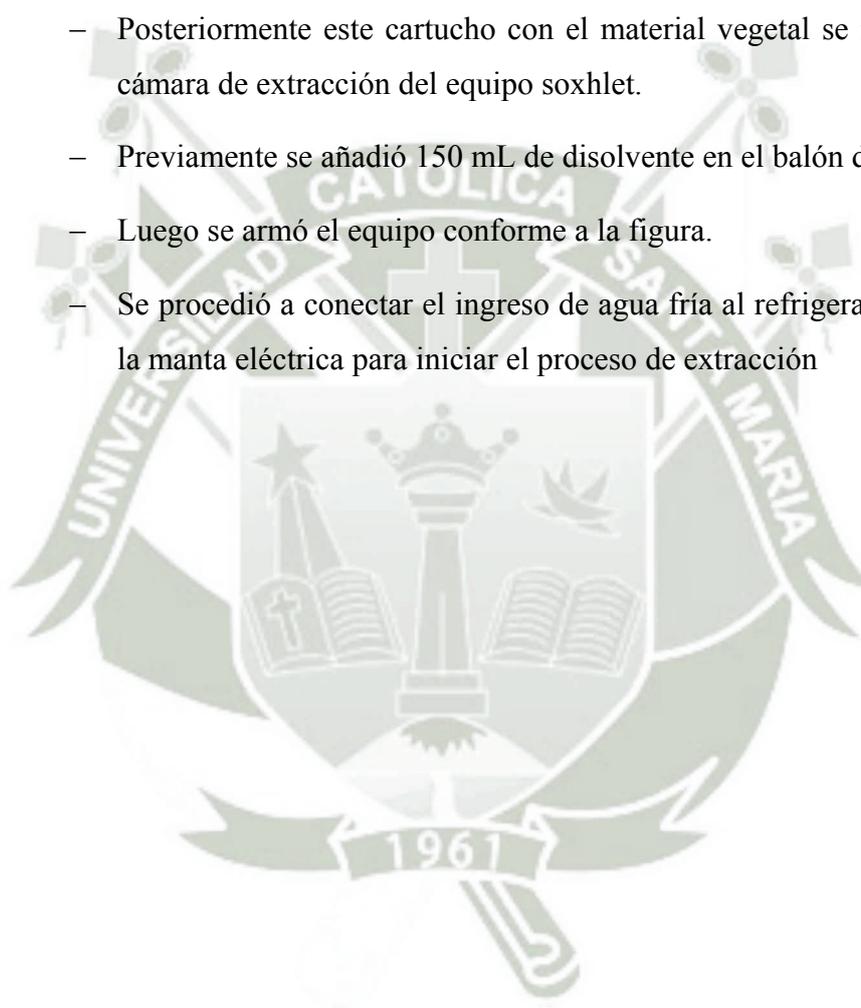
#### **2.2.2.1.1 Fundamento**

Es un método de extracción continuo que se utiliza para materiales sólidos. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel

conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material.

#### **2.2.2.1.2 Procedimiento**

- Se colocaron 10 gramos de material (hojas) pulverizado y acondicionado en un papel filtro a manera de cartucho.
- Posteriormente este cartucho con el material vegetal se introdujo en la cámara de extracción del equipo soxhlet.
- Previamente se añadió 150 mL de disolvente en el balón de destilación.
- Luego se armó el equipo conforme a la figura.
- Se procedió a conectar el ingreso de agua fría al refrigerante y encender la manta eléctrica para iniciar el proceso de extracción



### 2.2.2.1.3 *Disolventes*

El proceso de extracción con equipo Soxhlet se realizó con tres disolventes. Primero se procedió a extraer con alcohol etílico de 96°, luego se hizo otra extracción con otro cartucho con nuevo material vegetal utilizando esta vez como disolvente benceno. Finalmente se hizo una tercera extracción utilizando como disolvente acetato de etilo.

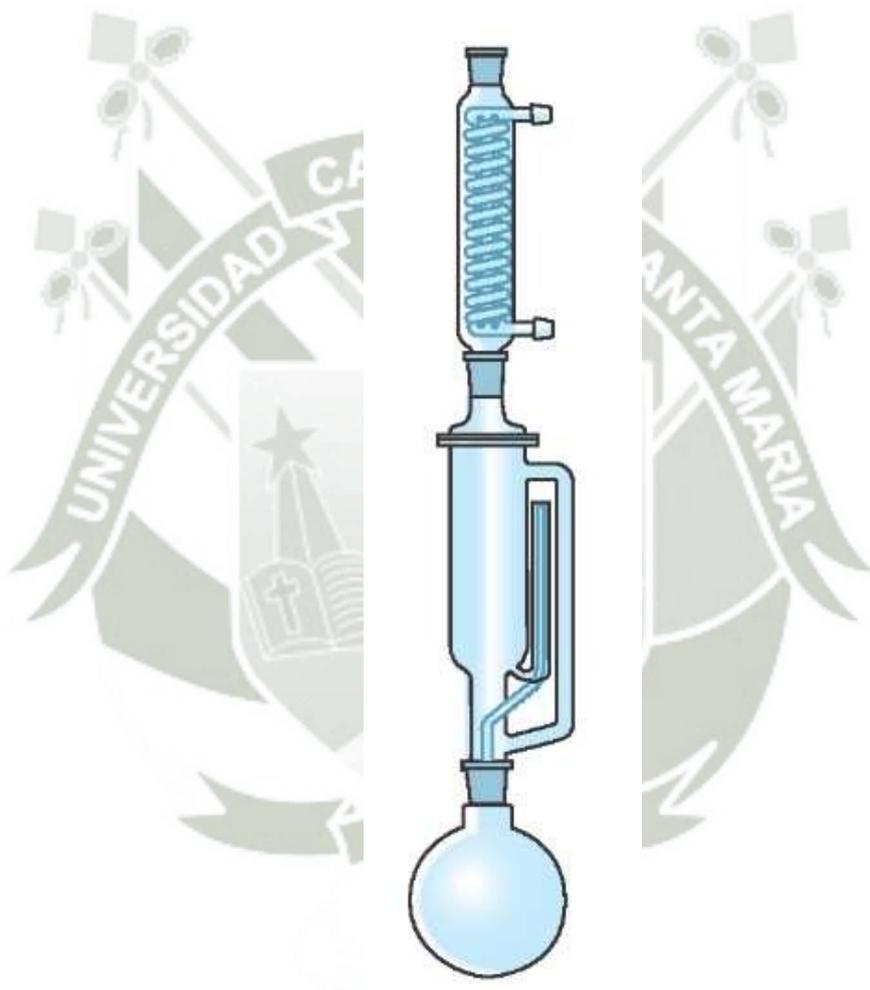


FIGURA N°4: EQUIPO SOXHLET

### 2.2.3. Identificación fitoquímica

#### 2.2.3.1 Método de cromatografía en capa fina.

##### 2.2.3.1.1 Fundamento

Esta técnica es importantísima en laboratorios de Química Orgánica. Es muy simple pero de gran utilidad. En este tipo de cromatografía la fase estacionaria se aplica sobre una superficie (vidrio, aluminio, etc.). Estas placas pueden ser compradas o preparadas en el laboratorio. La superficie de la fase estacionaria debe estar seca (activada) y protegida de la contaminación química. El procedimiento en este tipo de cromatografía consiste básicamente en dos etapas. Inicialmente la muestra, previamente diluida en un solvente adecuado (volátil), se aplica en la base de la placa y en seguida se coloca, en posición casi vertical, dentro de un recipiente de vidrio que contiene la fase móvil. Al entrar en contacto con la fase estacionaria, el solvente empieza a subir debido al fenómeno de capilaridad. A medida que la fase móvil sube, arrastra más rápidamente los componentes de la mezcla que tengan mayor afinidad por ésta. Cuando el frente del solvente alcanza cerca de 1-2 mm del borde superior de la placa, ésta se retira y se deja secar el solvente.

##### 2.2.3.1.2 Factor de referencia

Es un número que permite identificar sustancias considerando las distancias recorridas en un cromatograma y con un método cromatográfico dado.

La distancia recorrida por las manchas puede ser medida y la grandeza denominada factor de retención ( $R_f$ ) puede ser fácilmente calculada.  $R_f = d/D$ , donde  $d$  = distancia recorrida por la mancha (mm) y  $D$  = distancia recorrida por la fase móvil (mm).

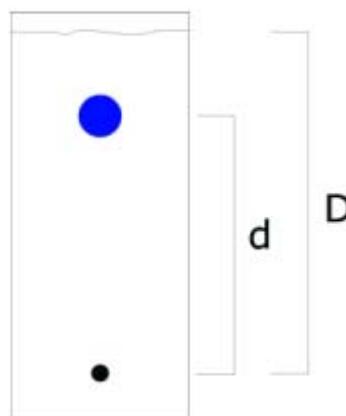


FIGURA N°4: MEDICIÓN DE DISTANCIAS PARA DETERMINACIÓN DEL RF

#### 2.2.4. Determinación de la actividad antipirética

##### 2.2.4.1 Fundamento

La fiebre se indujo de acuerdo con el método descrito por Smith y Hamburger, que consiste en la administración subcutánea de levadura de cerveza como agente pirógeno exógeno.

##### 2.2.4.2 Preparación de la unidad biológica animal

Todos los animales de experimentación fueron sometidos durante dos semanas previas a la experimentación a las mismas condiciones de crianza en cautiverio, se mantuvieron en sus jaulas separadas a la misma cantidad y momento de dieta; solo la noche anterior a la experiencia, se permitió el consumo de agua *ad libitum*.

##### 2.2.4.3 Estudio preliminar para la inducción de fiebre

Previamente a la realización de nuestra experimentación, fue necesario determinar la eficacia de la levadura de cerveza como agente inductor de la fiebre; y

constatar el número de animales que mostraron una elevación de al menos  $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  con relación a la temperatura basal. Para ello a los animales preparados se les midió la temperatura basal introduciendo 1.5 cm del termómetro rectal debidamente lubricado con vaselina, en algunos casos se sostuvo dicho termómetro rectal con cinta adhesiva fijada a la cola del animal, siendo necesario inmovilizarlo. El termómetro se mantuvo en el recto por un periodo de 5 minutos.

Posteriormente se administró vía SC (dorso del animal) una solución salina estéril de levadura de cerveza al 20%, en una dosis de 10 ml/kg, en el dorso de las ratas, para volverlas a sus respectivas jaulas. Pasadas 15-18 horas de la administración se midió la temperatura, tal como se mencionó en la parte inicial de este procedimiento. Solo las ratas con un incremento de  $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  sobre su temperatura basal y en relación al grupo control fueron utilizadas para experimentación, el resto sustituirlos por otros animales de experimentación, con los que se repitió el mismo procedimiento descrito.



**FIGURA N°5: SOLUCIÓN 20% DE  
LEVADURA DE CERVEZA**



**FIGURA N°6: ADMINISTRACIÓN SC DE LA SOLUCIÓN DE  
LEVADURA DE CERVEZA**

#### 2.2.4.4 Estudio preliminar para la determinación de la dosis de extracto de escorzonera

Se realizó con los extractos bencénico, acetato de etilo, y etanólico, con el fin de determinar la probable dosis antipirética de cada uno de ellos. Se utilizaron 9 animales de experimentación que mostraron piresis experimentalmente. Los extractos fueron administrados cuando los animales se encontraban en estado febril (a las 15 horas de administrada la solución de levadura de cerveza). Las dosis fueron las siguientes:

Nº Animal	Extracto administrado	Dosis
1	extracto bencénico seco	200 mg/kg
2		500 mg/kg
3		1000 mg/kg
4	extracto de acetato de etilo seco	200 mg/kg
5		500 mg/kg
6		1000 mg/kg
7	extracto etanólico seco	200 mg/kg
8		500 mg/kg
9		1000 mg/kg

Luego de administrar estas dosis se midió la temperatura rectal a los 30, 60, 120 minutos.



FIGURA N°7: SOLUCIÓN DEL EXTRACTO SECO  
ETANÓLICO



FIGURA N°8: ADMINISTRACIÓN ORAL DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO

#### 2.2.4.5 Estudio preliminar para la determinación de la dosis de paracetamol

Del mismo modo para los extractos, se determinó la dosis antipirética de paracetamol. También se trabajó con ratas que mostraron piresis inducida con levadura de cerveza. Las dosis fueron las siguientes:

**Rata 1:** 250 mg/kg de paracetamol.

**Rata 2:** 500 mg/kg de paracetamol.

**Rata 3:** 1000 mg/kg de paracetamol.

Luego de la administración se procedió a medir la temperatura rectal a los 30, 60, 120 minutos.



FIGURA N°9: SOLUCIÓN DEL PARACETAMOL



FIGURA N°10: ADMINISTRACIÓN ORAL DEL  
PARACETAMOL

#### 2.2.4.6 Preparación de las dosis de los extractos de escorzonera

Todos los extractos (bencénico, acetato de etilo y etanólico) secos se administraron mediante sonda orogástrica para su actividad sistémica, y debido a la naturaleza de los disolventes con el que fueron extractados, fue necesaria la preparación de un vehículo para la administración conveniente de los mismos, la fórmula del vehículo fue la siguiente:

Tween 20	1 g
Carboximetil celulosa	0.3 g
Agua destilada c.s.p.	100 mL

Para su preparación en primer lugar se disolvió la totalidad del extracto seco obtenido para la evaluación de la actividad antipirética en el tween. En vaso aparte se dispersó la carboximetil celulosa en el agua destilada, una vez disuelta se obtuvo un líquido viscoso al que se añadió la disolución del tween 20 más el extracto

seco, mediante agitación continua. La dosificación unitaria se calculó considerando la dosis del extracto a evaluar según el peso corporal de cada animal, y se relacionó con la concentración de la preparación para determinar la cantidad de mililitros a dosificar (anexo 3).

#### 2.2.4.7 Estudio final de la actividad antipirética de los extractos secos de escorzonera

Con el número de animales sensibles al efecto inductor de piresis con levadura de cerveza, es que se inició el estudio experimental definitivo. Se utilizaron 25 ratas de experimentación a las que se administró la dosis que en el estudio preliminar mostró adecuado efecto antipirético, tanto para los extractos como del paracetamol. Los animales se escogieron al azar para conformar los siguientes grupos experimentales:

Nº	Denominación	Descripción
1	Grupo control	Constituido por 5 ratas de laboratorio a las que no se les administró tratamiento alguno, solo solución salina de suero fisiológico como placebo.
2	Grupo extracto bencénico	Constituido por 5 ratas de laboratorio a las que se les administró 500 mg/kg del extracto bencénico seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
3	Grupo extracto acetato de etilo	Constituido por 5 ratas de laboratorio a las que se les administró 500 mg/kg del extracto de acetato de etilo seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
4	Grupo extracto etanólico	Constituido por 5 ratas de laboratorio a las que se les administró 500 mg/kg del extracto etanólico seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
5	Grupo paracetamol	Constituido por 5 ratas de laboratorio a las que se les administró 500 mg/kg de paracetamol.

Antes de la administración de la levadura de cerveza al 20% se registró la temperatura basal; inmediatamente se administró el pirógeno exógeno (solución de levadura de cerveza al 20 %), luego de transcurridas 15 horas se volvió a medir la temperatura ( $T_f$  = temperatura febril), y se administró por vía oral los tratamientos, posteriormente se midió la temperatura rectal a los 30, 60 y 120 minutos ( $T_t$  = temperatura tratamiento). La variación de la temperatura se halló mediante la siguiente expresión:

$$\Delta T = T_f - T_t$$

Dónde:  $T_f$  = temperatura febril

$T_t$  = temperatura tratamiento



**FIGURA N°11: INTRODUCCIÓN DEL TERMÓMETRO RECTAL**



**FIGURA N°12: MEDICIÓN DE LA TEMPERATURA RECTAL**

## 2.2.5. Métodos estadísticos

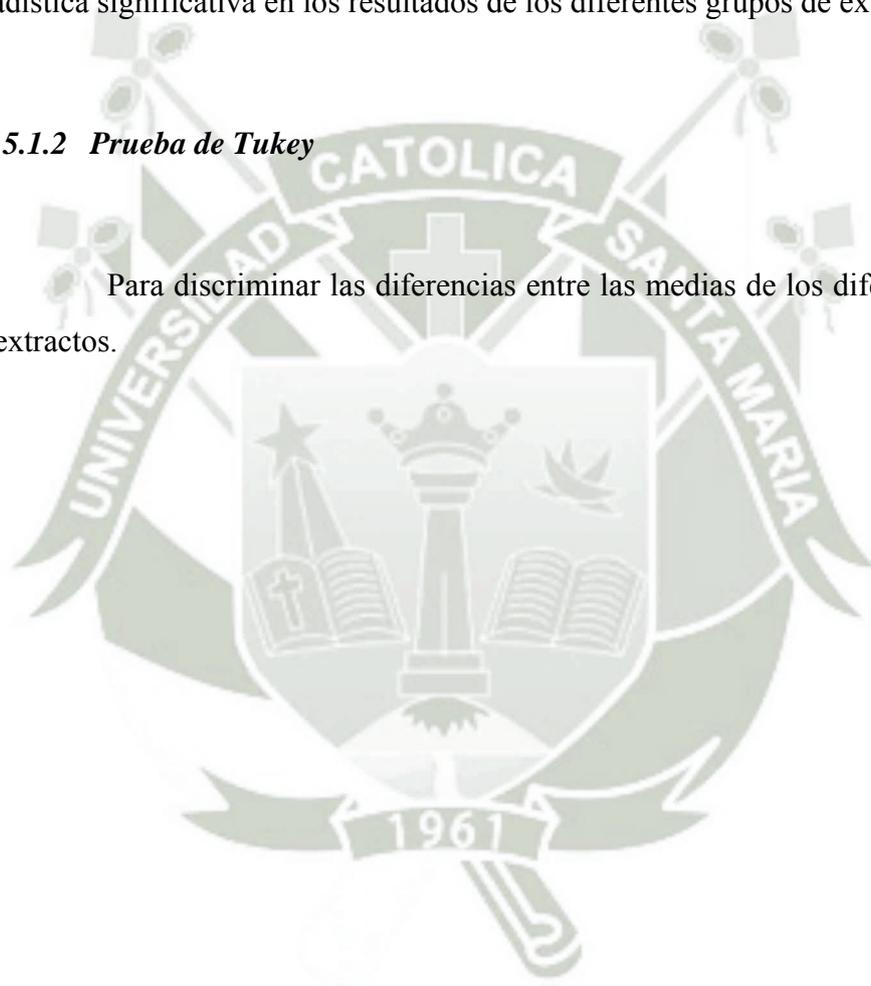
### 2.2.5.1 Prueba de significancia estadística

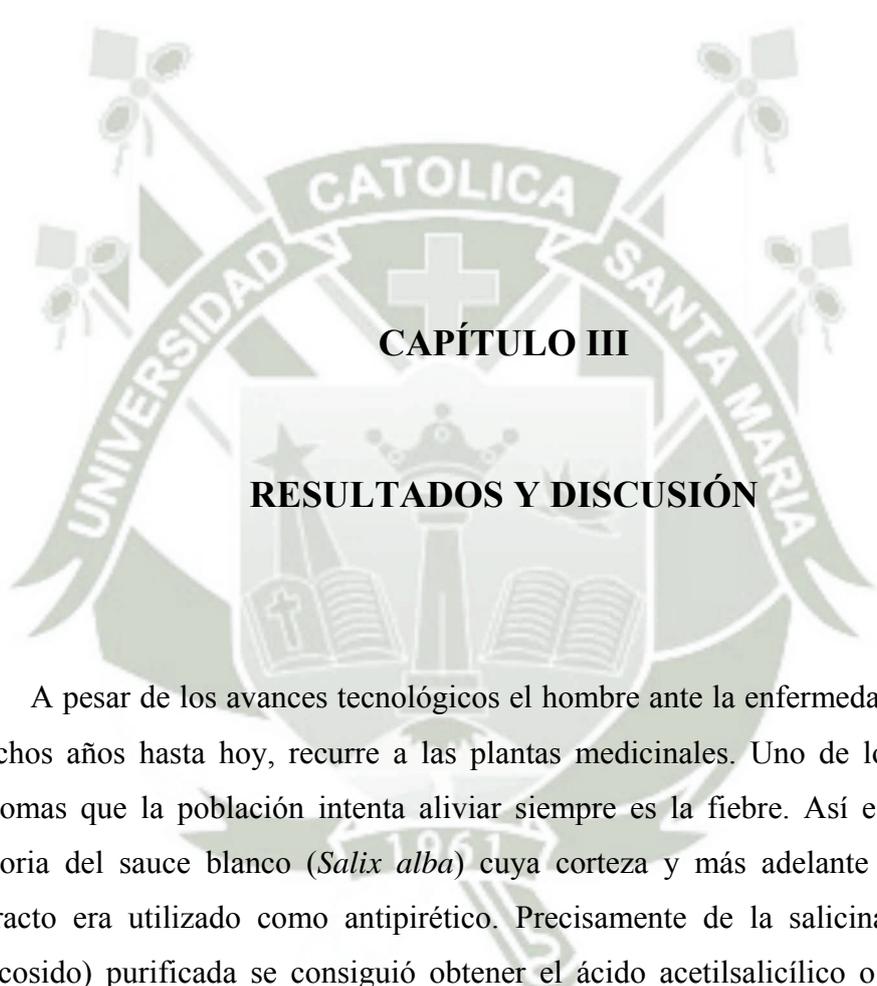
#### 2.2.5.1.1 *Análisis de varianza*

Procedimiento estadístico que determina si existe o no diferencia estadística significativa en los resultados de los diferentes grupos de extractos.

#### 2.2.5.1.2 *Prueba de Tukey*

Para discriminar las diferencias entre las medias de los diferentes grupos de extractos.





### CAPÍTULO III

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de los avances tecnológicos el hombre ante la enfermedad, desde hace muchos años hasta hoy, recurre a las plantas medicinales. Uno de los principales síntomas que la población intenta aliviar siempre es la fiebre. Así es conocida la historia del sauce blanco (*Salix alba*) cuya corteza y más adelante (s. XVII), el extracto era utilizado como antipirético. Precisamente de la salicina (genina del salicosido) purificada se consiguió obtener el ácido acetilsalicílico o comúnmente conocido como aspirina, con reconocido efecto antipirético. En nuestro medio también existen plantas medicinales a las que la población otorga propiedades antipiréticas, una de ellas es la escorzonera (*Perezia Multiflora*), la misma que fue evaluada mediante el presente estudio.

### 3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ESCORZONERA

Tras la adquisición de la droga y su preparación conforme a la metodología descrita en el capítulo anterior, esto es estabilización, desecación y posterior trituración mediante mortero y pilón de porcelana, se consiguió pasar la droga a un estado de polvo fino, el cual fue almacenado en un recipiente de vidrio de color ámbar debidamente rotulado.



**FIGURA 13: SELECCIÓN DE LAS HOJAS DE ESCORZONERA**



**FIGURA N°14: MOLIENDA DE LAS HOJAS DE ESCORZONERA**

Se efectuaron tres pesadas cada una de 10 g de polvo de escorzonera, con el que se procedió a realizar tres extracciones sucesivas con el equipo de destilación Soxhlet, utilizando para cada uno 150 mL de disolvente, a saber: acetato de etilo, benceno y alcohol etílico. Se encendió la cocinilla y se colocó el balón de destilación del equipo en un baño maría controlando siempre la temperatura para que no exceda los 80 °C, que corresponde al mayor punto de ebullición solvente (benceno).

Realizado los cuatro ciclos que duro la extracción con cada solvente, se retiraron los extractos y fueron concentrados en baño maría.



**FIGURA N° 15: EXTRACCIÓN EN SOXHLET CON ACETATO DE ETILO**

**FIGURA 16: CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO**



Una vez concentrados se realizó la marcha fitoquímica y el ensayo biológico destinado a evaluar su efecto antipirético.

### **3.2. IDENTIFICACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

Para la realización de la cromatografía en capa fina se utilizó cromatofolios de aluminio con soporte de sílica gel. La dimensión de las placas fue de 10 cm x 4 cm. Se trazaron dos líneas en los bordes cortos de la placa, en una de ellas se realizó el sembrado a una altura de 1cm del extremo. Se sembraron los tres extractos convenientemente separados uno del otro, con la ayuda de un capilar en cantidad suficiente de la muestra, luego se desarrolló la placa en los disolventes, se

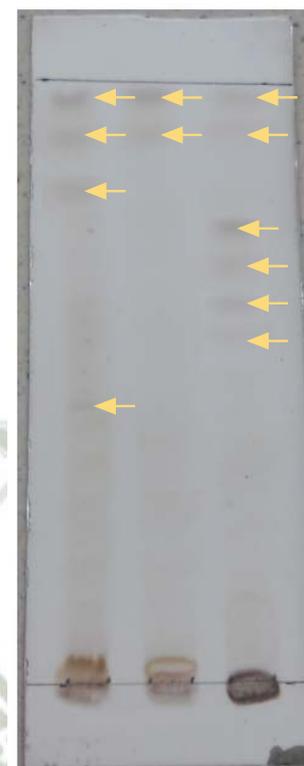
dejó secar y se aplicó el revelador correspondiente obteniendo los siguientes resultados:

<p>En la cromatografía de compuestos generales se utilizaron los siguientes reactivos:</p>				
<b>Fase móvil:</b>	Acetato de etilo:	Metanol:	Agua	
	97	20	10	
<b>Revelador</b>	Reactivo de vainillina-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
<p><b>Resultado:</b> Se detectaron manchas moradas y azules correspondientes a terpenos en los tres tipos de extractos: acetato de etilo, etanol y benceno.</p>				

En la cromatografía para la separación de sustancias de naturaleza terpénica se utilizaron los siguientes reactivos:

<b>Fase móvil:</b>	Tolueno:	Acetato de etilo
	93	7
<b>Revelador</b>	Reactivo de Liebermann Burchard	

**Resultado:** Se detectaron manchas rosas, lo cual evidencia la presencia de saponinas. Estas se observaron en los tres tipos de extractos: acetato de etilo, etanol y benceno.

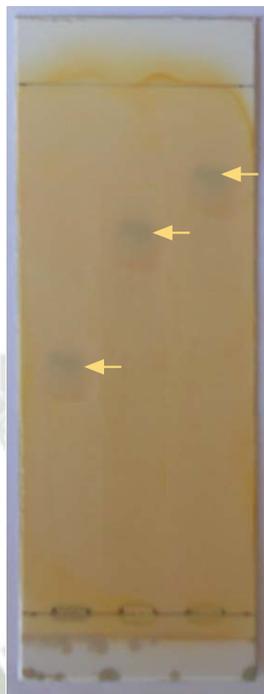


En la cromatografía para la separación de flavonoides se utilizaron los siguientes reactivos:

<b>Fase móvil:</b>	Acetato de etilo:	Ácido fórmico:	Ácido acético:	Agua
	100	11	11	26
<b>Revelador</b>	Reactivo de cloruro de aluminio			

**Resultado:** Se detectaron manchas fluorescentes intensas, que evidencian la presencia de flavonoides; estas se observaron solo en el extracto con etanol.



<p>En la cromatografía para la separación de taninos se utilizaron los siguientes reactivos:</p>			
<b>Fase móvil:</b>	Metanol:	Agua	
	70	30	
<b>Revelador</b>	Reactivo de cloruro férrico		
<p><b>Resultado:</b> Se detectaron manchas azules, que demuestran la presencia de taninos en los tres extractos de escorzonera.</p>			

<p>En la cromatografía para la separación de alcaloides se utilizaron los siguientes reactivos:</p>			
<b>Fase móvil:</b>	Ácido acético:	Metanol: Agua	
	70	10 20	
<b>Revelador</b>	Reactivo de Dragendorff		
<p><b>Resultado:</b> No se evidenció la presencia de alcaloides.</p>			

**CUADRO N° 1**  
**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE LOS TRES EXTRACTOS DE**  
**ESCORZONERA**

Compuestos secundarios	Resultados		
	Extracto de acetato de etilo	Extracto etílico	Extracto bencénico
Terpenos	Morado y Azul (+)	Morado y Azul (+)	Morado y Azul (+)
Saponinas	Rosa (+)	Rosa (+)	Rosa (+)
Flavonoides	No se evidencia (-)	Amarillo intenso (+)	No se evidencia (-)
Taninos	Azules (+)	Azules (+)	Azules (+)
Alcaloides	No se evidencia (-)	No se evidencia (-)	No se evidencia (-)

Fuente: Elaboración propia

Tomando en cuenta el estudio fitoquímico realizado mediante cromatografía en capa fina, donde se detectó la presencia de terpenos, saponinas y taninos; podríamos señalar que los responsables del efecto antipirético se encontraría dentro de los terpenos y saponinas. Para un mejor entendimiento es recomendable realizar estudios que utilicen fracciones del extracto de acetato de etilo, por otra parte los taninos serían descartados debido a su elevado tamaño molecular que impediría alcanzar el centro de regulación de la temperatura corporal.

### 3.3. ESTUDIO PRELIMINAR

Se realizó un estudio preliminar con la finalidad de determinar la sensibilidad a la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) como agente inductor de fiebre por vía subcutánea.

Luego de administrar solución salina de levadura cerveza al 20% y en dosis de 10 mL/kg de peso corporal, se lograron resultados satisfactorios: un

incremento de temperatura entre 0.5 y 1.2 °C después de 15 horas de administrado el agente inductor.

El segundo estudio preliminar fue para determinar la dosis eficaz de los extractos de escorzonera, para ello se administraron en tres diferentes dosis: 200 mg, 500 mg y 1000 mg. Se obtuvieron resultados positivos para la dosis de 500 mg. Observándose a la dosis de 1000 mg en el caso de los extractos secos de acetato de etilo y benceno, deposiciones líquidas y aletargamiento en los animales de experimentación, lo que nos condujo a descartar esta dosis, por lo que se optó por la dosis de 500 mg para los tres extractos.

El tercer estudio preliminar se realizó con paracetamol, a fin de determinar la dosis antipirética. Este se administró a los animales de experimentación en estado febril en tres dosis: 250, 500 y 1000 mg/kg siendo la dosis efectiva de 500 mg/kg.

## CUADRO N° 2

### DOSIS DEFINITIVAS DE LAS DIFERENTES SUSTANCIAS UTILIZADAS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA ESCORZONERA

SUSTANCIA ACTIVA	DOSIS
Levadura de cerveza al 20%	10 mL/ kg
Extracto seco (benceno)	500 mg /kg
Extracto seco (acetato de etilo)	500 mg /kg
Extracto seco (etanólico)	500 mg /kg
Paracetamol	500 mg /kg

*Fuente: Elaboración propia*

Como se realizó en otros estudios<sup>18, 33, 36, 39</sup> experimentales que tienen como objetivo evaluar el efecto antipirético de una droga, se logró a través del mismo precisar la dosis antipirética de los extractos de escorzonera y del paracetamol.

### 3.4. ESTUDIO FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCORZONERA

El estudio final comprendió 5 grupos experimentales, uno tratado con extracto bencénico, acetato de etilo, otro con extracto etanólico, el cuarto con paracetamol y un grupo control.

Se inició el estudio definitivo mediante un diseño experimental que utilizó como inductor de la fiebre el método de inyección subcutánea de levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) con dosis de 10 mL/ kg peso corporal, utilizado por García González Mildred *et al.* en este modelo la levadura se utiliza como fuente de lipopolisacáridos, ya que su pared celular es rica en  $\beta$ -glucanos y mananos, componentes con capacidad inmunogénica que actúan estimulando a los monocitos para la biosíntesis y liberación de citosinas pirógenas como IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ , que una vez liberadas a la circulación general pasan al sistema nervioso central y estimulan la síntesis y liberación de prostaglandina (PGE2) por las células endoteliales del hipotálamo.<sup>36</sup> Esta molécula se une a los receptores EP<sub>3</sub> de las células del centro termorregulador hipotalámico desencadenando así los mecanismos neuronales que elevan el punto prefijado hipotalámico, que a su vez desencadena las modificaciones fisiológicas que conllevan la fiebre a través de un aumento en la producción de calor y disminución de la misma.<sup>36</sup>

Los promedios de la temperatura febril (°C) alcanzados en cada grupo experimental, se observa en el Cuadro N° 3.

#### CUADRO N°3

##### ESTADÍSTICOS DE LA TEMPERATURA FEBRIL INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE EN LOS GRUPOS DE TRABAJO

Grupos experimentales	N° ratas	T°. Promedio (°C)	Mediana	Desv. típ.
"Extracto bencénico"	5	39.4	39.5	0.2
"Extracto de acetato de etilo"	5	39.2	38.9	0.5
"Extracto etanólico"	5	39.1	39.0	0.3
"Paracetamol"	5	39.5	39.6	0.1
"Control"	5	39.1	39.1	0.1

Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro N° 4 se observa según el valor de “P”, que los promedios no son significativamente diferentes, por lo que todos los grupos son iguales en cuanto a sus medias y varianzas.

**CUADRO N° 4**

**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL INCREMENTO DE TEMPERATURA  
EN LOS 5 GRUPOS DE TRATAMIENTO**

ANOVA	SS	Df	MS	P
Entre ensayos	0.7	4	0.2	0.08
Dentro de los ensayos	1.4	20	0.1	
Total	2.1	24		

Los promedios son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ): No

SS: Suma de cuadrados; df: grados libertad; MS: media cuadrática.

Fuente: *Elaboración propia*

**CUADRO N° 5**

**TEST DE TUKEY PARA EL INCREMENTO DE TEMPERATURA EN LOS  
5 GRUPOS DE TRATAMIENTO**

Test de comparación múltiple de Tukey	Mean Diff.	Q	Significante P < 0.05
Etanólico Febril vs Acetato Febril	-0.1	0.3	No
Etanólico Febril vs Bencénico Febril	-0.3	2.4	No
Etanólico Febril vs Paracetamol Febril	-0.4	3.2	No
Etanólico Febril vs Control Febril	0.1	0.2	No
Acetato Febril vs Bencénico Febril	-0.2	2.1	No
Acetato Febril vs Paracetamol Febril	-0.3	2.9	No
Acetato Febril vs Control Febril	0.1	0.5	No
Bencénico Febril vs Paracetamol Febril	-0.1	0.9	No
Bencénico Febril vs Control Febril	0.3	2.6	No
Paracetamol Febril vs Control Febril	0.4	3.4	No

Mean Diff: Diferencia de medias; q: valor de la tabla para el nivel de significancia de Tukey

Fuente: *Elaboración propia*

Se aplicó también el Test de rango múltiple de Tukey ( $p < 0.05$ ) encontrándose que no existen diferencias entre las comparaciones par a par de grupos de tratamiento, en cuanto a la temperatura febril, todos los grupos son iguales. Por lo tanto se acepta la hipótesis nula entre los grupos; para este análisis estadístico podemos ver que todas las ratas tienen similar grado de temperatura y se encuentran en el mismo estado febril.

Una vez alcanzado el estado febril en todos los animales de experimentación, estos se sometieron a los tratamientos respectivos. A continuación (cuadro N° 6) presenta grupos de temperatura medida a los 30 minutos para observar el análisis de varianza entre temperatura febril y la obtenida después del tratamiento.

**CUADRO N° 6**  
**ESTADÍSTICOS DE TEMPERATURA A LOS 30 MINUTOS DE**  
**ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Grupos experimentales	N° ratas	T°. Promedio (°C)	Mediana	Desv. típ.
"Extracto bencénico"	5	39.3	39.4	0.2
"Extracto de acetato de etilo"	5	38.7	38.7	0.3
"Extracto etanolico"	5	39.1	39.1	0.2
"Paracetamol"	5	37.9	38.0	0.5
"Control"	5	39.2	39.0	0.3

*Fuente: Elaboración propia*

El Cuadro N° 6 recoge los estadísticos de las temperaturas registradas a los 30 minutos de administrados los tratamientos a los 5 grupos. Se observa que el grupo de menor promedio de temperatura corresponde al grupo de paracetamol con 37.9 °C. Dentro de los tres extractos el que mejor disminuyó la temperatura fue el extracto de acetato de etilo (38.7°C); resaltando que los otros dos extractos presentaron promedio cercanos al control.

## CUADRO N° 7

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A  
LOS 30 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS

ANOVA	SS	Df	MS	P
Entre ensayos	10.1	4	2.5	<0.0001
Dentro de los ensayos	1.8	20	0.1	
Total	11.9	24		

Los promedios son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ): Si

SS: Suma de cuadrados; df: grados libertad; MS: media cuadrática.

*Fuente: Elaboración propia*

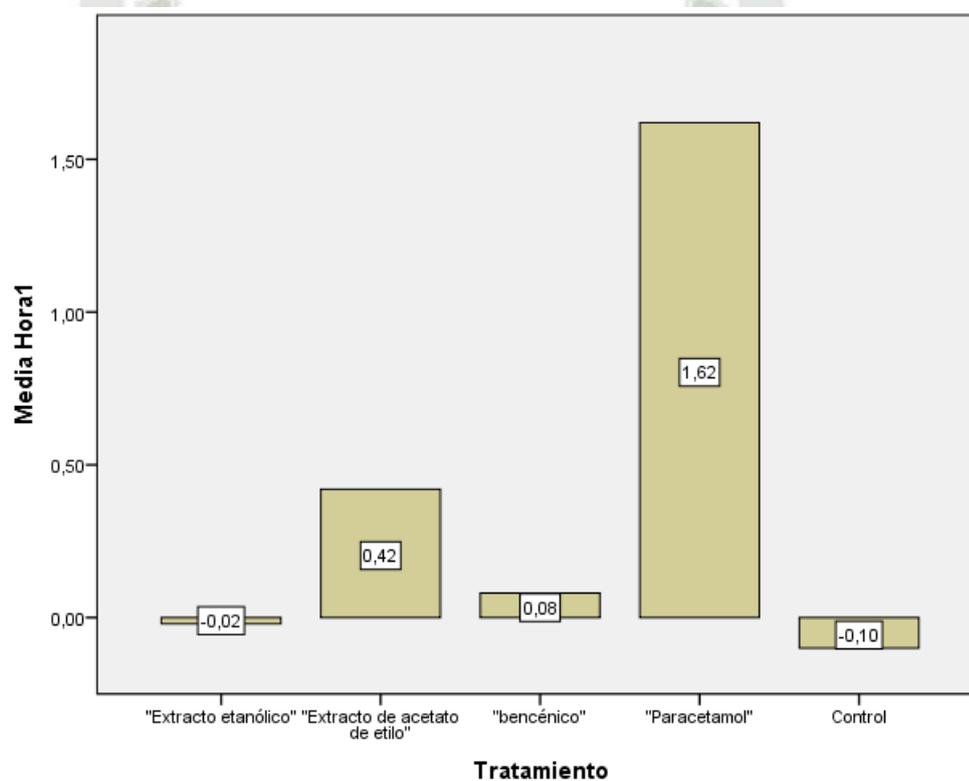
El análisis de varianza aplicado a la variación de temperatura luego de 30 min, se registró en el Cuadro N° 7 observándose que si existen diferencias significativas entre los distintos grupos ( $P < 0.0001$ ).

El gráfico N°1 de barras muestra los promedios de todos los grupos en tanto la variación de temperatura. El control presenta un valor negativo debido a la inducción del estado febril que fue en incremento, siendo mayor a los 30 minutos que en el tiempo inicial.

El gráfico N°1 de los promedios de variación de la temperatura es coherente con los resultados relacionados a los estadísticos de la temperatura medida a los 30 minutos y se expone en el Cuadro N° 6.

### GRÁFICO N° 1

#### PROMEDIO DE VARIACIÓN DE TEMPERATURA A LOS 30 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS A TODOS LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



**CUADRO N° 8**

**TEST DE TUKEY PARA LA VARIACION DE TEMPERATURA A LOS 30  
MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

<b>Test de comparación múltiple de Tukey</b>	<b>Mean Diff.</b>	<b>q</b>	<b>Significante P &lt; 0.05</b>
Extracto etanólico H1 vs Acetato de etilo H1	-0.4	3.3	No
Extracto etanólico H1 vs Bencénico H1	-0.1	0.7	No
Extracto etanólico H1 vs Paracetamol H1	-1.6	12.2	Yes
Extracto etanólico H1 vs Control H1	0.1	0.6	No
Acetato de etilo H1 vs Bencénico H1	0.3	2.5	No
Acetato de etilo H1 vs Paracetamol H1	-1.0	8.9	Yes
Acetato de etilo H1 vs Control H1	0.5	3.9	No
Bencénico H1 vs Paracetamol H1	-1.5	11.4	Yes
Bencénico H1 vs Control H1	0.2	1.3	No
Paracetamol H1 vs Control H1	1.7	12.8	Yes

Mean Diff: Diferencia de medias; q: valor de la tabla para el nivel de significancia de Tukey

*Fuente: Elaboración propia*

Mediante el test de Tukey se observaron diferencias significativas entre las comparaciones por pares de los distintos grupos. En el cuadro N° 8 de resultados de este test, se aprecia que “No” (recuadros con sombra) hay diferencia significativa entre los grupos control, extracto bencénico, acetato de etilo y etanólico, y todos ellos son diferentes estadísticamente del grupo paracetamol.

En razón a ello a los 30 minutos se observa la acción antipirética solo del paracetamol, no apreciándose actividad alguna para los extractos.

El cuadro N°9 resume los grupos homogéneos según el test de Tukey respecto a la variación de temperatura a los 30 minutos de administrados los tratamientos, según este cuadro, el control, los grupos tratados con extracto etanólico,

extracto bencénico, de acetato de etilo constituyen un grupo homogéneo denominado grupo “A”, que es diferente del grupo tratado con paracetamol denominado grupo “B”.

### CUADRO N° 9

#### GRUPOS HOMOGÉNEOS SEGÚN EL TEST DE TUKEY RESPECTO A LA VARIACION DE TEMPERATURA A LOS 30 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS

Tratamiento	N	Promedio	DSF Tukey
Control	5	-0.1	A
"Extracto etanólico"	5	-0.02	A
"Extracto bencénico"	5	0.08	A
"Extracto de acetato de etilo"	5	0.42	A
"Paracetamol"	5	1.62	B

*Fuente: Elaboración propia*

El cuadro N°10 muestra los estadísticos de la temperatura medida a los 60 minutos de administrados los tratamientos. En este cuadro el grupo tratado con paracetamol es el que muestra mayor descenso de la misma, en segundo lugar se encuentra el extracto de acetato de etilo; en tercer lugar el grupo tratado con extracto etanólico, seguido del grupo tratado con extracto bencénico y finalmente se ubica con el menor descenso el grupo control con 39.5°C.

**CUADRO N° 10**

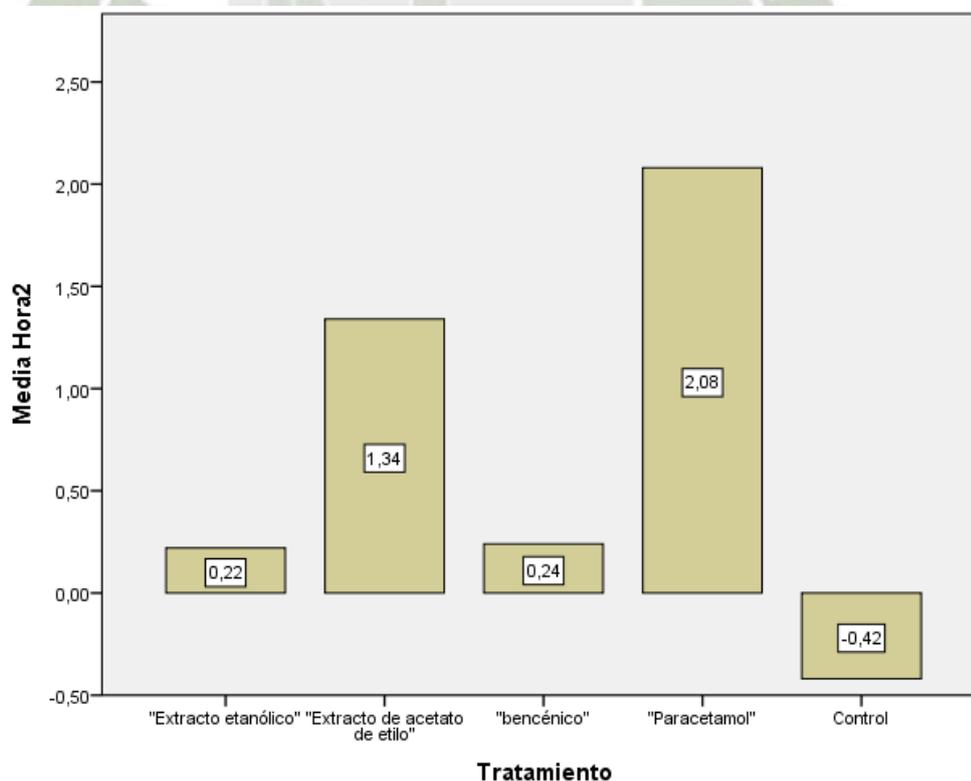
**ESTADÍSTICOS DE TEMPERATURA A LOS 60 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Grupos experimentales	N° ratas	T°. Promedio (°C)	Mediana	Desv. tít.
"Extracto bencénico"	5	39.2	39.3	0.2
"Extracto de acetato de etilo"	5	37.8	38.2	0.9
"Extracto etanólico"	5	38.9	38.8	0.2
"Paracetamol"	5	37.4	37.5	0.4
Control	5	39.5	39.6	0.2

*Fuente: Elaboración propia*

**GRÁFICO N° 2**

**PROMEDIO DE LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A LOS 60 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**



Del mismo modo el Gráfico N° 2 muestra los promedios de la variación de la temperatura a los 60 min (hora 2), es coherente con los resultados relacionados a los estadísticos de la temperatura medida en ese tiempo y que se expone en el cuadro N°10.

Se observa en este gráfico un valor negativo para el grupo control, debido a que en este grupo no hubo un descenso de la temperatura, más bien se observó un incremento de la misma.

El Cuadro N° 11 donde se encuentran los resultados del análisis de varianza respecto a la temperatura en °C, a los 60 minutos de administrados los tratamientos, muestra un valor de  $p < 0.0001$ , que denota para los promedios son significativamente diferentes.

**CUADRO N° 11**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A**  
**LOS 60 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

ANOVA	SS	Df	MS	P
Entre ensayos	20.1	4	5.1	<0.0001
Dentro de los ensayos	4.4	20	0.2	
Total	24.45	24		

Los promedios son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ): Si

SS: Suma de cuadrados; df: grados libertad; MS: media cuadrática.

*Fuente: Elaboración propia*

Del mismo modo en el Cuadro N°12 se aplicó la prueba de especificidad o el test de Tukey para comparar los grupos experimentales; según esta prueba, el grupo extracto bencénico, etanólico y control no presentan diferencias significativas

frente al control; por otra parte el grupo tratado con extracto de acetato de etilo y paracetamol son estadísticamente similares.

**CUADRO N° 12**

**TEST DE TUKEY PARA LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A LOS 60 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Test de comparación múltiple de Tukey	Mean Diff.	q	Significante P < 0.05
Extracto etanolico H2 vs Acetato de etilo H2	-1.1	5.3	Yes
Extracto etanolico H2 vs Bencénico H2	-0.1	0.1	No
Extracto etanolico H2 vs Paracetamol H2	-1.9	8.9	Yes
Extracto etanolico H2 vs Control H2	0.6	3.1	No
Acetato de etilo H2 vs Bencénico H2	1.1	5.2	Yes
Acetato de etilo H2 vs Paracetamol H2	-0.7	3.5	No
Acetato de etilo H2 vs Control H2	1.8	8.4	Yes
Bencénico H2 vs Paracetamol H2	-1.8	8.8	Yes
Bencénico H2 vs Control H2	0.7	3.1	No
Paracetamol H2 vs Control H2	2.5	11.9	Yes

Mean Diff: Diferencia de medias; q: valor de la tabla para el nivel de significancia de Tukey

Fuente: *Elaboración propia*

En el cuadro N°12 se observan las diferencias significativas a  $P < 0.05$ , se aprecia por ejemplo que “No” hay diferencias significativas (recuadros sombreados) entre el grupo tratado con extracto etanólico y extracto bencénico; entre el grupo tratado con extracto etanólico y grupo control; por otra parte no hay diferencias significativas entre el grupo tratado con acetato de etilo y paracetamol.

Estos dos últimos grupos son diferentes de los primeros debido a que si existen diferencias significativas por ejemplo entre el grupo tratado con acetato de etilo y extracto bencénico.

## CUADRO N° 13

**GRUPOS HOMOGÉNEOS SEGÚN EL TEST DE TUKEY RESPECTO A LA  
VARIACIÓN DE TEMPERATURA A LOS 60 MINUTOS DE  
ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Tratamiento	N	Promedio	DSF Tukey
Control	5	-0.42	A
"Extracto etanólico"	5	0.22	A
"Extracto bencénico"	5	0.24	A
"Extracto de acetato de etilo"	5	1.34	B
"Paracetamol"	5	2.08	B

*Fuente: Elaboración propia*

El cuadro N° 13 resume los grupos homogéneos según el test de Tukey respecto a la variación de temperatura a los 60 minutos de administrados los tratamientos, según este cuadro, el control, los grupos tratados con extracto etanólico, extracto bencénico, de acetato de etilo constituyen un grupo homogéneo denominado grupo "A", que es diferente del grupo tratado con extracto de acetato de etilo y paracetamol denominado grupo "B".

En el Cuadro N°14 se observa la tercera medición a los 120 minutos. El grupo tratado con paracetamol es el que muestra menor temperatura (37.2 °C), seguido del grupo de extracto de acetato de etilo. Los otros tres grupos de tratamiento muestran temperaturas mayores.

**CUADRO N° 14**

**ESTADÍSTICOS DE TEMPERATURA A LOS 120 MINUTOS DE  
ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Grupos experimentales	N° ratas	T°. Promedio °C	Mediana	Desv. típ.
"Extracto bencénico"	5	38.8	38.8	0.1
"Extracto de acetato de etilo"	5	37.6	38.0	0.9
"Extracto etanólico"	5	38.7	38.7	0.2
"Paracetamol"	5	37.2	37.1	0.5
Control	5	39.9	39.9	0.6

*Fuente: Elaboración propia*

En el Cuadro N° 15 se aprecia que  $p < 0.0001$ , valor que es inferior al nivel crítico de 0.05 por lo que todos los grupos de tratamiento son diferentes entre sí.

**CUADRO N° 15**

**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A  
LOS 120 MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

ANOVA	SS	Df	MS	P
Entre ensayos	29.9	4	7.5	<0.0001
Dentro de los ensayos	6.1	20	0.3	
Total	36	24		

Los promedios son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ): Yes

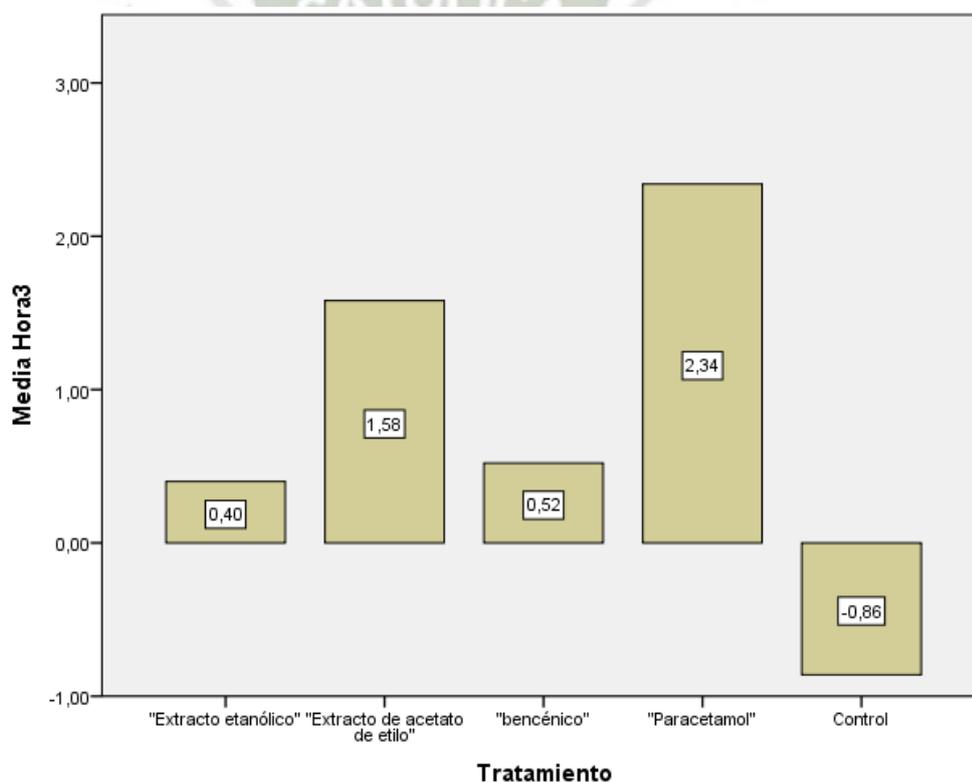
SS: Suma de cuadrados; df: grados libertad; MS: media cuadrática.

*Fuente: Elaboración propia*

El Gráfico N°3 de los promedios de la variación de temperatura a los 120 minutos ilustra mejor los resultados de los estadísticos expuestos en el cuadro N°14.

**GRÁFICO N°3**

**PROMEDIO DE LA VARIACIÓN DE TEMPERATURA A LOS 120  
MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**



**CUADRO N° 16**

**TEST DE TUKEY PARA LA VARIACION DE TEMPERATURA A LOS 120  
MINUTOS DE ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Test de comparación múltiple de Tukey	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?
Extracto etanólico H3 vs Acetato de etilo H3	-1.2	4.8	Yes
Extracto etanólico H3 vs Bencénico H3	-0.1	0.5	No
Extracto etanólico H3 vs Paracetamol H3	-1.9	7.8	Yes
Extracto etanólico H3 vs Control H3	1.3	5.1	Yes
Acetato de etilo H3 vs Bencénico H3	1.1	4.3	Yes
Acetato de etilo H3 vs Paracetamol H3	-0.8	3.1	No
Acetato de etilo H3 vs Control H3	2.4	9.6	Yes
Bencénico H3 vs Paracetamol H3	-1.8	7.4	Yes
Bencénico H3 vs Control H3	1.4	5.6	Yes
Paracetamol H3 vs Control H3	3.2	12.9	Yes

*Fuente: Elaboración propia*

En el cuadro N°16 se observan las diferencias significativas a  $P < 0.05$ , se aprecia por ejemplo que “No” hay diferencias significativas (recuadros sombreados) entre el grupo tratado con extracto etanólico y extracto bencénico; por otra parte no hay diferencias significativas entre el grupo tratado con acetato de etilo y paracetamol.

Estos dos últimos grupos son diferentes de los primeros (grupo tratado con extracto etanólico y bencénico) debido a que si existen diferencias significativas por ejemplo entre el grupo tratado con acetato de etilo y extracto bencénico.

## CUADRO N° 17

**GRUPOS HOMOGÉNEOS SEGÚN EL TEST DE TUKEY RESPECTO A LA  
VARIACION DE TEMPERATURA A LOS 120 MINUTOS DE  
ADMINISTRADOS LOS TRATAMIENTOS**

Tratamiento	N	Promedio	DSF Tukey
Control	5	-0.86	A
"Extracto etanólico"	5	0.4	B
"bencénico"	5	0.52	B
"Extracto de acetato de etilo"	5	1.58	C
"Paracetamol"	5	2.34	C

*Fuente: Elaboración propia*

El cuadro N°17 resume los grupos homogéneos según el test de Tukey respecto a la variación de temperatura a los 120 minutos de administrados los tratamientos, según este cuadro, el control constituye el grupo "A", los grupos tratados con extracto etanolico y extracto bencénico el grupo "B"; finalmente el grupo tratado con acetato de etilo constituyen y con paracetamol el grupo "C".

Tras el estudio se determinó que el extracto seco obtenido con acetato de etilo muestra actividad antipirética comparable con el paracetamol, es probable que este efecto similar al control positivo esté influido por la naturaleza del disolvente; ya que el acetato de etilo extraería metabolitos secundarios con mayor liposolubilidad que el etanol que al ser polar extrae metabolitos activos de la escorzonera que tendrían dificultad para atravesar la BHE y alcanzar el centro termorregulador de la temperatura corporal; sin embargo, no se podría decir lo mismo del benceno que al ser polar extrae sustancias más liposolubles, por lo que en este orden de ideas la actividad del extracto de acetato de etilo en comparación con el bencénico estaría más relacionado al carácter estructural particular del tipo de activos presentes en el extracto de acetato de etilo y que no se encontrarían en el bencénico.

## CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron los extractos de hojas de escorzonera, mediante el método extractivo de Soxhlet.
2. Se logró identificar mediante cromatografía en capa fina las siguientes familias de metabolitos secundarios: saponinas, terpenos y taninos en los tres extractos; y en el extracto etanólico adicionalmente se identificaron flavonoides.
3. Se determinó la actividad antipirética de los extractos secos (etanólico, de acetato de etilo y bencénico) de las hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera, obteniendo como resultado al acetato de etilo con mayor eficacia antipirética en animales febriles experimentalmente.
4. Se comparó los extractos de escorzonera con el paracetamol, presentando una eficacia comparable a este fármaco el extracto con acetato de etilo.

## SUGERENCIAS

1. Efectuar un estudio fitoquímico completo y determinar la relación composición química y actividad antipirética de las fracciones extractivas de las hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera
2. Realizar un estudio de toxicidad en animales de experimentación de los extractos (de acetato de etilo, bencénico y etílico) de las hojas de *Perezia multiflora* o escorzonera.
3. Realizar estudios sobre los demás efectos o usos medicinales (diurético, expectorante) de las hojas y/o raíces de *Perezia multiflora* o escorzonera.

## BIBLIOGRAFÍA

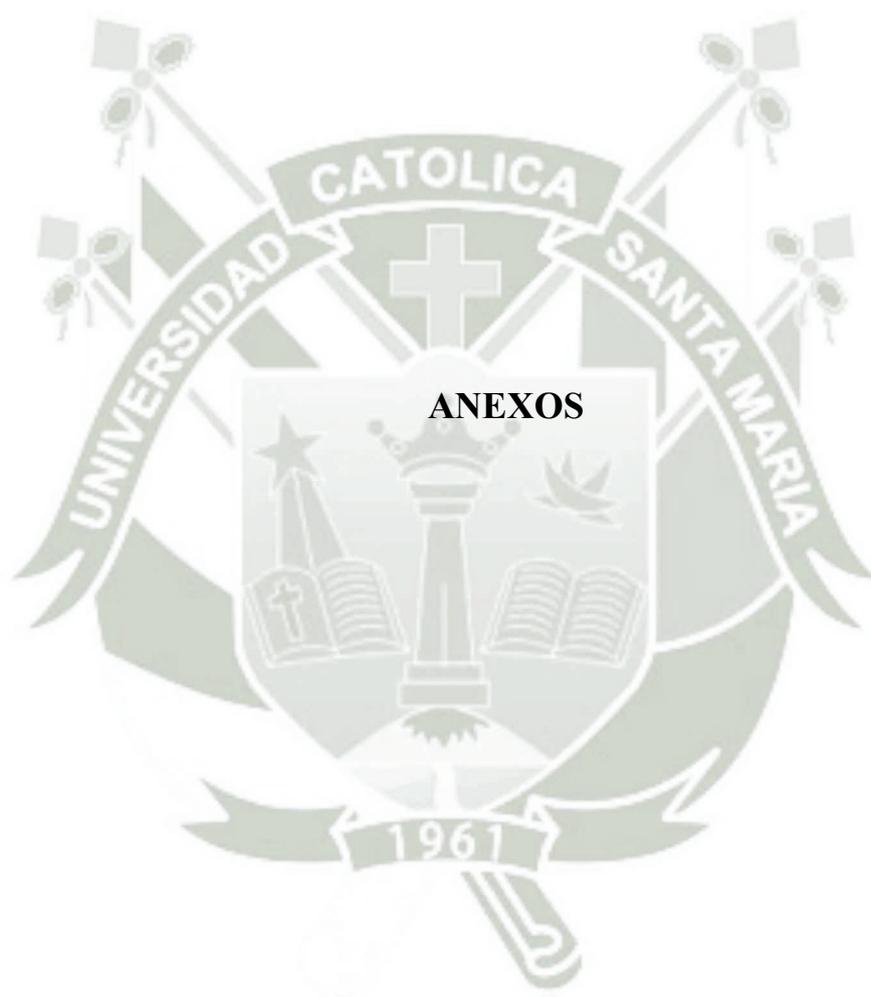
1. Ahmad and Owais: MODERN PHYTOMEDICINE, First Edition. Wiley-VCH Press. 2006.
2. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: BOTÁNICA FARMACÉUTICA. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
3. Alvarado Alva J.: APUNTES DE FARMACOLOGÍA. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
4. Barnes Joanne, Anderson Linda y Phillipson David: HERBAL MEDICINES. 3ª Edición, Pharmaceutical Press. 2007.
5. Bonal de Falgás (Editor): FARMACIA CLÍNICA, 1ª Edición. 1999. Editorial SINTESIS S.A.
6. Bowman W.C. y Rand M.J.: FARMACOLOGÍA BASES BIOQUÍMICAS Y PATOLÓGICAS APLICACIONES CLÍNICAS, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
7. Brack Egg Antonio: DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE PLANTAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 1999.
8. Bravo Díaz Luis: FARMACOGNOSIA. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
9. Bruneton J.: FARMACOGNOSIA FITOQUÍMICA PLANTAS MEDICINALES. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
10. C. Rozman: COMPENDIO DE MEDICINA INTERNA, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
11. Carrasco Díaz S.; METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
12. Carruthers G. & Hoffman B. & Melmon K. & Nierenberg D.: CLINICAL PHARMACOLOGY. 4ª Edition, 2000. Editorial McGraw Hill.

13. Cseke Leland, Ara Kirakosyan, Peter Kaufman, James Duke, and Harry Brielmann: NATURAL PRODUCTS FROM PLANTS. Second Edition. Taylor and Francis Group. 2006.
14. Daniel Peretta Marcelo.: REINGENIERA FARMACÉUTICA, PRINCIPIOS Y PROTOCOLOS DE LA ATENCIÓN AL PACIENTE. 2ª Edición. 2005. Editorial Médica Panamericana.
15. Farreras Rozman: MEDICINA INTERNA, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
16. Flórez Jesús: FARMACOLOGÍA HUMANA, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
17. Ganong William: FISIOLOGÍA MÉDICA. 16ª Edición, 1998. Editorial El Manual Moderno. México.
18. García González Mildred et al: ANTIPYRETIC EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OBTAINED FROM LEAVES OF NEUROLAENA LOBATA (ASTERACEAE) ON A PYRECTIC MODEL INDUCED BY BREWER'S YEAST. Revista Médica de la Universidad de Costa Rica. Vol 1, Num 1, Art 3. 2007.
19. Harman J., Limbirt L. y Gilman A.: LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
20. Harvey R. & Champe P. (Editors): PHARMACOLOGY. 4ª Edición, 2009. Lippincott Edition.
21. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C.: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 5ª Edición, 2010. MCGRAW HILL Interamericana Editores.
22. Herrera Carranza Joaquín: MANUAL DE FARMACIA CLÍNICA Y ATENCIÓN FARMACÉUTICA. 1ª Edición. 2004. Editorial ELSEVIER S.A, España.
23. Ighodaro Igbe et al: ANTIPYRECTIC AND ANALGESIC EFFECTS OF THE AQUEOUS EXTRACT OF THE FRUIT PULP OF HUNTERIA UMBELLATA K SCHUM (APOCYNACEAE). Tropical Journal of Pharmaceutical Research. August 2009.

24. James A. Duke: HANDBOOK OF MEDICINAL PLANTS OF LATIN AMERICA. 1ª Edición. CRC Press. 2007.
25. Kalant Harold & Roschlau Walter: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FARMACOLOGÍA MÉDICA. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.
26. Katzung Bertram G.: FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA. 11ª Edición, 2009. Editorial McGraw Hill Interamericana.
27. Lester Packer, Choon Nam Ong and Barry Halliwell (Edit): HERBAL AND TRADITIONAL MEDICINE, MOLECULAR ASPECTS OF HEALTH. 1ª Edición. Marcel Dekker Press. 2004.
28. Lock de Ugaz O.: INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
29. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: VELÁZQUEZ FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
30. Makkar H., Siddhuraju and Klaus Becker: PLANT SECONDARY METABOLITES, First Edition. Humana Press. 2007.
31. Marcano Deanna y Hasegawa Masahisa: FITOQUÍMICA ORGÁNICA. 2ª Edición. 2002. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
32. Mostacero J.; Mejia F.; Gamarra O.: TAXONOMÍA DE LAS FANERÓGAMAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
33. Mwonjoria J.K. et al: THE ANTINOCICEPTIVE ANTIPYRECTI EFFECTS OF SOLANUM INCANUM (LINNEAUS) IN ANIMAL MODELS. International Journal of Phytopharmacology. 2011.
34. Ocampo Rogelio y otros: CURSO PRÁCTICO DE QUÍMICA ORGÁNICA ENFOCADO A BIOLOGÍA Y ALIMENTOS. 1ª Edición. 2008. Comité Editorial Universidad de Caldas.
35. Rang H. & Dale M.: PHARMACOLOGY, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.

36. Sirakarn Chomchuen et al: ANTIPYRETIC EFFECT OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF FICUS RACEMOSA ROOT IN RATS. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University. Bangkok. 2010.
37. Sotta Apaza Norma: PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS DE LA REGIÓN AREQUIPA. 1ª Edición 2000. Ediciones CORDAID.
38. Tejada Cano M. (Director): ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD CUENTA DEL COTAHUASI: LA UNIÓN AREQUIPA FLORA MEDICINAL. 1ª Edición. 1998. Asociación Especializada para el desarrollo.
39. Velásquez Hernández María Elena: ACTIVIDAD ANTIPIRÉTICA DE EXTRACTOS CRUDOS Y PROTEÍCOS DE FLOR DE JAMAICA (HIBISCUS SABDARIFFA L.) Facultad de Químico farmacobiología: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 2010.
40. Verlag Stuttgart: MANUAL DE QUÍMICA ORGÁNICA. 19ª Edición 1988. Editorial Reverté S.A. España.





**ANEXO N° 1: VALORES DE TEMPERATURA (°C) LOS GRUPOS DE ESTUDIO**

GRUPO	N° Animal		Basal	TemFebril	30 MIN	60 MIN	120 MIN
"Etanólico"	1		38.40	39.40	39.30	39.20	38.90
	2		37.90	39.00	39.00	38.80	38.60
	3		38.00	38.80	39.10	38.70	38.50
	4		38.40	39.40	39.30	39.10	38.90
	5		38.10	39.00	39.00	38.70	38.70
	Total	N	5	5	5	5	5
"Acetato de etilo"	1		38.60	39.90	39.00	38.20	37.90
	2		38.10	38.90	38.50	38.10	38.00
	3		38.20	39.30	39.00	38.30	38.10
	4		38.30	38.80	38.70	36.10	35.90
	5		38.10	38.90	38.50	38.40	38.00
	Total	N	5	5	5	5	5
"Bencénico"	1		38.40	39.20	39.10	38.90	38.80
	2		38.60	39.60	39.50	39.30	38.80
	3		38.90	39.50	39.40	39.00	38.90
	4		38.40	39.20	39.10	39.30	38.80
	5		38.60	39.50	39.50	39.30	39.10
	Total	N	5	5	5	5	5
"Paracetamol"	1		38.90	39.40	38.00	37.90	37.80
	2		38.90	39.60	38.20	37.50	37.10
	3		38.90	39.60	37.00	36.80	36.50
	4		38.50	39.30	38.00	37.40	37.30
	5		38.40	39.60	38.20	37.50	37.10
	Total	N	5	5	5	5	5
Control	1		38.50	39.20	39.50	39.60	39.90
	2		38.50	39.00	39.00	39.30	39.50
	3		38.20	39.00	39.00	39.80	41.00
	4		38.50	39.20	39.50	39.60	39.90
	5		38.20	39.10	39.00	39.30	39.50
	Total	N	5	5	5	5	5

**ANEXO N° 2: VARIACIÓN DE LA TEMPERATURA EN °C EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO**

GRUPO	N° Animal		30min	60 min	120 min
"Etanólico"	1		0.10	0.20	0.50
	2		0.00	0.20	0.40
	3		-0.30	0.10	0.30
	4		0.10	0.30	0.50
	5		0.00	0.30	0.30
	Total	N	5	5	5
"Acetato de etilo"	1		0.90	1.70	2.00
	2		0.40	0.80	0.90
	3		0.30	1.00	1.20
	4		0.10	2.70	2.90
	5		0.40	0.50	0.90
	Total	N	5	5	5
"Bencénico"	1		0.10	0.30	0.40
	2		0.10	0.30	0.80
	3		0.10	0.50	0.60
	4		0.10	-0.10	0.40
	5		0.00	0.20	0.40
	Total	N	5	5	5
"Paracetamol"	1		1.40	1.50	1.60
	2		1.40	2.10	2.50
	3		2.60	2.80	3.10
	4		1.30	1.90	2.00
	5		1.40	2.10	2.50
	Total	N	5	5	5
Control	1		-0.30	-0.40	-0.70
	2		0.00	-0.30	-0.50
	3		0.00	-0.80	-2.00
	4		-0.30	-0.40	-0.70
	5		0.10	-0.20	-0.40
	Total	N	5	5	5

### ANEXO N°3: CÁLCULO DE DOSIS

**Extracto etanólico:** Disolución 1452,1 mg

Animal	Peso corporal (g)	Dosis general arbitraria por Kg animal	Dosis final
1	210	200 mg/Kg	0.58
2	230	500 mg/Kg	1.58
3	212	1000 mg/Kg	2.92

**Extracto acetato de etilo:** Disolución 751,9 mg

Animal	Peso corporal (g)	Dosis general arbitraria por Kg animal	Dosis final
1	215	200 mg/Kg	2.85
2	230	500 mg/Kg	3.05
3	209	1000 mg/Kg	5.48

**Extracto bencénico:** Disolución 717.4 mg

Animal	Peso corporal (g)	Dosis general arbitraria por Kg animal	Dosis final
1	210	200 mg/Kg	1.17
2	210	500 mg/Kg	2.93
3	213	1000 mg/Kg	5.94

**Ejemplo de cálculo de dosis: Extracto etanólico**

Peso de vaso + extracto: 107.2965 g  
 Peso vaso vacío: 105.8444 g  
 Peso extracto: 1452,1 g  
 Disolución: 1452,1 g en vehículo c.s.p. 20 ml

**Dosis general: 500 mg/kg**

Peso animal: 212 g

500mg → 1000g

X → 212 g

X= 106 mg

1452,1 mg → 20 ml de disolución

106mg → X

X= 1.46 ml de (dosis de extracto para el animal)  
 disolución