



UNIVERSIDAD DE IBEROAMERICA

FACULTAD DE FARMACIA

DISEÑO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE EXTRACTOS DE ECHINACEA
PURPUREA Y SU APLICACIÓN COMO COADYUVANTE EN LA PROFILAXIS DE LA
TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA EN PERROS

SUSTENTANTES:

MELANIE MORALES CERDAS
NATALIA PORTUGUEZ MARÍN

TUTOR:

DR. DOUGLAS OVIEDO CERDAS

I CUATRIMESTRE 2025

MODALIDAD DE TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIATURA EN FARMACIA

I. Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo diseñar una formulación a base de extractos de *Echinacea purpurea* para su aplicación como coadyuvante en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa canina también conocida como “tos de las perreras”. El interés por desarrollar este proyecto surgió ante la creciente necesidad de alternativas naturales que refuercen el sistema inmunológico de los perros, especialmente en ambientes de alta densidad, donde las enfermedades respiratorias infecciosas tienen alta prevalencia. El uso de antibióticos tradicionales ha generado resistencia bacteriana, haciendo urgente la búsqueda de soluciones que reduzcan efectos adversos y mejoren la calidad de vida animal.

La justificación para la escogencia del tema se basa en la alta incidencia de infecciones respiratorias caninas causadas por *Bordetella bronchiseptica*, un patógeno de transmisión rápida y difícil control, especialmente en refugios y criaderos. Estudios recientes demuestran tasas preocupantes de infección y resistencia antibiótica a nivel mundial, lo cual refuerza la necesidad de estrategias profilácticas complementarias. Asimismo, en Costa Rica, aunque existen vacunas disponibles, no existe una formulación natural como coadyuvante en la prevención de esta enfermedad, esto representa una oportunidad de innovación.

Para la realización del proyecto, se empleó una metodología que abarcó varias fases. Primero, se investigaron las causas y agentes etiológicos de la TIC para comprender los mecanismos de acción de la enfermedad. Posteriormente, se caracterizaron los extractos de raíces y hojas de *Echinacea purpurea* mediante análisis fitoquímicos, con el fin de identificar compuestos bioactivos como alquilamidas, polisacáridos y derivados del ácido cafeico, responsables de sus propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias. Luego, se desarrolló una formulación oral adecuada para caninos, evaluando parámetros de estabilidad y biodisponibilidad.

Durante la caracterización se confirmó que los extractos de *Echinacea purpurea* contienen metabolitos secundarios que potencian la respuesta inmune innata y presentan propiedades antioxidantes importantes para el manejo de infecciones respiratorias. La formulación diseñada mostró actividad antimicrobiana moderada y buena capacidad antioxidante, lo cual refuerza su potencial como agente profiláctico natural.

Se concluye que la *Echinacea purpurea* representa una alternativa segura y viable para fortalecer el sistema inmunitario canino, reducir la incidencia de infecciones respiratorias y disminuir el uso de antibióticos, contribuyendo a un enfoque más sostenible y preventivo en medicina veterinaria. Se demostró además la importancia de seguir desarrollando formulaciones naturales enfocadas en poblaciones vulnerables, como cachorros y perros geriátricos, y la necesidad de fomentar el control de calidad en productos naturales para garantizar su efectividad. Este proyecto abre la puerta a futuras investigaciones clínicas que evalúen la eficacia en campo de la formulación desarrollada, así como la posibilidad de integrar alternativas naturales en programas de control de enfermedades respiratorias en refugios, criaderos y hogares de mascotas.

II. Dedicatoria

Dedicamos este trabajo con profundo agradecimiento y cariño a todas las personas que han sido parte esencial de nuestro recorrido académico y personal.

A nuestras familias, por ser nuestro sostén inquebrantable, por su amor incondicional, su paciencia y su confianza en nosotras. Sus enseñanzas y valores han sido la guía en cada paso de este camino.

A nuestros seres queridos, quienes, con palabras de aliento y gestos de afecto, nos impulsaron a continuar aun en los momentos más difíciles.

A nuestros docentes y mentores, que con su dedicación, conocimiento y ejemplo sembraron en nosotras la pasión por aprender y superarnos constantemente. Gracias por inspirarnos.

III. Agradecimientos

Queremos expresar nuestro más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que fueron pilares fundamentales en la elaboración de esta tesis, cuya culminación no habría sido posible sin su apoyo incondicional. En primer lugar, a nuestras familias, por cada palabra de aliento en los momentos de duda, por su paciencia en los días largos y difíciles, y por brindarnos la fortaleza que nos permitió avanzar con firmeza.

Extendemos también nuestra gratitud a los docentes y asesores que nos guiaron con sabiduría y generosidad durante este proceso, especialmente al Dr. Douglas Oviedo Cerdas. Su compromiso con la enseñanza, su disposición para resolver nuestras dudas y su exigencia constructiva fueron claves para nuestro crecimiento académico y personal. Cada sugerencia, cada corrección y cada conversación enriquecieron profundamente este trabajo.

Gracias, además, a todas aquellas personas que, desde su lugar, aportaron su granito de arena desde quienes facilitaron información clave, hasta quienes nos motivaron con una palabra amable o una sonrisa oportuna. Esta tesis es el resultado de un esfuerzo colectivo y del cariño de quienes nos rodean. A todos ustedes, les dedicamos este logro con el corazón lleno de gratitud.

Tabla de contenido

CAPÍTULO I- INTRODUCCIÓN	9
1.1. Introducción:	10
1.2. Planteamiento del problema:	11
- Aspectos generales:.....	11
1.2.1 Problemática a nivel mundial:	12
1.2.2 Problemática a nivel local:	19
- Pregunta de investigación	20
1.3. Objetivos	21
1.3.1. Objetivo General.....	21
1.3.2. Objetivos específicos	22
1.4. Justificación	22
1.5. Antecedentes:	24
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	38
2.1. Echinacea Purpurea: Generalidades	39
2.1.1. Taxonomía de la <i>Echinacea purpurea</i>	39
2.1.2. Historia y uso tradicional.	39
2.1.3. Composición Fitoquímica.....	42
2.1.4. Propiedades farmacológicas.....	47
2.2. Patología implicada	51
2.2.1. Traqueobronquitis Infecciosa en Perros.....	51
2.2.2. Etiología y agentes causales (principales microorganismos)	52
2.2.3. Síntomas clínicos.....	52
2.2.4. Diagnóstico	53
2.2.5. Tratamientos actuales y convencionales.....	53
2.3. Aplicación de la <i>Echinacea purpurea</i> como profiláctico	54
2.3.1. Posible mecanismo de acción como coadyuvante en la tos de las perreras.	54
2.4. Métodos de extracción y cuantificación de los metabolitos de la <i>Echinacea purpurea</i>	55
2.4.1. Método de extracción Soxhlet.....	55
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	60
3.1 Enfoque	61
3.2 Tipo de investigación	61
3.3 Fuentes de información	62
3.4 Población y Muestra	62

3.5 Criterios de búsqueda de información.....	63
3.6 Criterios de Inclusión y Exclusión	64
3.7 Variables de la investigación.....	65
3.8 Descripción del procedimiento de recolección y análisis de datos	67
3.9 Descripción de instrumentos y técnicas.....	68
3.10 Materiales equipos y condiciones	69
3.10.1 Materiales utilizados	69
3.10.2 Equipos:	70
3.10.3 Reactivos:.....	70
3.11 Diseño de experimentos:	71
<i>CAPÍTULO IV - ANÁLISIS DE RESULTADOS</i>	74
Procesamiento del material vegetal	75
Extracción de los metabolitos secundarios de la <i>Echinacea purpurea</i>	75
Determinación de Análisis por TLC.....	77
Determinación de metabolitos mediante análisis de espectrometría Infrarroja	80
Determinación de metabolitos mediante Cromatografía de masas.....	84
Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) de extracto de <i>Echinacea purpurea</i> con diclorometano:.....	103
En el análisis se reveló la presencia de los siguientes cuatro compuestos detectables:	103
Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) de Extracto de <i>Echinacea purpurea</i> con hexano:	106
En el análisis se reveló la presencia de los siguientes cuatro compuestos detectables:	106
Desarrollo de la formulación.	112
Gel de <i>Echinacea Purpurea</i>	113
<i>CAPÍTULO V - CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</i>	117
5.1 Conclusiones	118
5.2 Recomendaciones	120
<i>REFERENCIAS</i>	121

CAPÍTULO I- INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción:

Dentro de la sociedad, la salud animal ha cobrado una gran relevancia, por lo que la medicina veterinaria requiere de nuevos productos que contribuyan a beneficiar la salud animal, esta corriente es impulsada por el creciente interés en la mejora del bienestar de las mascotas y la búsqueda de tratamientos efectivos para diversas patologías. En este ámbito, las enfermedades respiratorias en los perros representan un gran desafío, muy especialmente aquellas de etiología infecciosa, como la traqueobronquitis infecciosa canina, popularmente conocida como "tos de las perreras". Esta enfermedad, es caracterizada por ser altamente contagiosa, pues puede afectar caninos de todas las edades y condiciones, a pesar de ello su impacto se observa significativamente en aquellos que se encuentran sometidos a estrés o en condiciones de aglomeración, como refugios, criaderos y perreras (Santévet & SantéVet, 2024).

Sobre los medicamentos empleados para tratar la traqueobronquitis infecciosa convencionalmente se encuentran los antibióticos, antiinflamatorios, en algunos casos, vacunas preventivas. Se sabe que existe un importante problema de resistencia bacteriana y además que el uso prolongado de este tipo de fármacos puede generar diversos efectos adversos sobre el organismo que se exponga, esto ha llevado a la búsqueda de alternativas naturales que actúen como coadyuvantes en la prevención y el manejo de esta enfermedad. Debido a esto, el uso de extractos de plantas con propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias ha despertado un notable interés en la comunidad científica y veterinaria (Santévet & SantéVet, 2024).

Una de las plantas con mayor potencial para tratar problemas respiratorios es la *Echinacea purpurea*, conocida por sus resultados en la modulación del sistema inmunológico y en la reducción de la inflamación. Esta planta es empleada comúnmente en la medicina humana para la prevención y el tratamiento de infecciones respiratorias, actualmente ha dado inicio su aplicación en la medicina veterinaria donde se han obtenido resultados prometedores. Las diferentes investigaciones han señalado que los extractos de *Echinacea purpurea* pueden activar la respuesta inmune innata en los perros, incrementando la resistencia a infecciones respiratorias y disminuyendo el agravamiento de los síntomas cuando la enfermedad se manifiesta (Del Rocío Perejón-Rubio & García-Gimenez, 2021).

El presente trabajo de investigación centrado en el diseño de una formulación de extractos de *Echinacea purpurea* para su aplicación en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros pretende proponer una solución innovadora para la medicina veterinaria. La propuesta no solo busca el fortalecimiento del sistema inmunológico de manera natural en perros, sino que también se busca un método de menor agresividad y con menor riesgo de efectos negativos en comparación con los tratamientos convencionales. Además, el desarrollo de una alternativa de administración eficiente que permita aprovechar al máximo los compuestos bioactivos de la planta, garantizando una acción terapéutica ideal. Por lo que, con este proyecto, se espera extender la comprensión de las acciones terapéuticas de la *Echinacea purpurea* en animales y abrir nuevas oportunidades en el tratamiento y prevención de enfermedades respiratorias en poblaciones caninas vulnerables.

1.2. Planteamiento del problema:

- Aspectos generales:

La traqueobronquitis infecciosa en perros, también conocida como tos de las perreras, es una afección común que afecta el tracto respiratorio superior de los caninos que puede afectar a perros de diferentes edades, especialmente en ambientes de alta densidad como criaderos y refugios, esta enfermedad se caracteriza por inflamación e infección de la tráquea y los bronquios, puede causar una serie de síntomas molestos y debilitantes para los animales, incluyendo tos persistente, secreción nasal, fiebre y, en casos graves, neumonía. La prevención y el tratamiento efectivo de esta condición son fundamentales para garantizar la salud y el bienestar de los perros afectados (Minimol, n.d.).

La *Echinacea Purpurea* emerge como una alternativa prometedora debido a sus conocidas propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias, se ha demostrado en diversos estudios que presenta capacidad para fortalecer el sistema inmunológico y reducir la inflamación, lo cual la convierte en una planta ideal para abordar problemas respiratorios de origen inmunitario en perros (Del Rocío Perejón-Rubio & García-Gimenez, 2021).

El presente proyecto de investigación se centra en la formulación y diseño de un producto profiláctico basado en extractos de *Echinacea Purpurea*, destinado a servir como coadyuvante en la prevención de la traqueobronquitis infecciosa en perros de los compuestos bioactivos de la *Echinacea Purpurea* al tracto respiratorio superior de los animales, maximizando así su eficacia terapéutica y minimizando los efectos secundarios.

Se procederá a la extracción y caracterización de los compuestos bioactivos presentes en la *Echinacea Purpurea*, evaluando su capacidad antioxidante y la caracterización de sus compuestos bioactivos, este producto no solo pretende ofrecer una alternativa natural y efectiva para el manejo de enfermedades respiratorias en perros, sino también proporcionar nuevas opciones terapéuticas tanto para veterinarios como para criadores de mascotas.

1.2.1 Problemática a nivel mundial:

La infección causada por *Bordetella bronchiseptica* (Bb) constituye una de las principales problemáticas dentro del complejo respiratorio infeccioso canino (CIRDC) a nivel mundial, siendo responsable de cuadros clínicos severos tanto en perros como en gatos. Esta bacteria gramnegativa, perteneciente al género *Bordetella*, tiene una alta afinidad por el tracto respiratorio de mamíferos y se ha identificado como un patógeno crítico debido a su elevada tasa de transmisión, virulencia significativa, resistencia antimicrobiana creciente y falta de vacunación adecuada en varios países (Shang et al 2024).

Entre 2021 y 2023, un estudio epidemiológico en China evidenció que el porcentaje de perros positivos a *B. bronchiseptica* alcanzó el 22.94% (441 de 1922 muestras analizadas). Esta tasa de positividad varió regionalmente entre un 15.47% y un 36.23% dependiendo de la provincia. Adicionalmente, se encontró que el porcentaje de aislamiento en perros con síntomas respiratorios fue de 6.54%, significativamente mayor en comparación con el 1.45% observado en perros asintomáticos. La tasa de aislamiento general de cepas en perros y gatos fue de 1.87%, lo que, aunque menor que en especies como los cerdos (4.25% en estudios anteriores), refleja una presencia constante en la población canina y felina (Shang et al 2024).

La facilidad de transmisión es uno de los factores que agrava la problemática. *B. bronchiseptica* posee una tasa de transmisión cercana al 100% mediante aerosoles y contacto directo entre perros susceptibles, pudiendo propagarse en tan solo 1 a 4 días. Esta característica epidemiológica es especialmente preocupante en entornos de alta concentración de animales, como refugios, perreras, criaderos y centros de adopción (Shang et al 2024).

A nivel de patogenicidad, más del 90% de las cepas de *B. bronchiseptica* aisladas presentaron simultáneamente cuatro genes de factores de virulencia (VFGs): *fhaB*, *prn*, *betA* y *dnt*. Estos genes codifican proteínas que facilitan la adhesión bacteriana, evasión del sistema inmune y destrucción del tejido respiratorio, contribuyendo así a la gravedad de los cuadros clínicos. Además, se observó que 100% de las cepas aisladas mostraron resistencia a múltiples antibióticos, siendo consideradas cepas multidrogoresistentes. En particular, todos los aislamientos fueron resistentes a fosfomicina y la gran mayoría (91.67%) a ampicilina. Asimismo, un 72.22% de las cepas fueron resistentes a al menos cuatro clases de antibióticos (Shang et al 2024).

Otro elemento agravante es la limitada disponibilidad de vacunas eficaces en ciertos países. En China, por ejemplo, no existen vacunas comerciales autorizadas para perros y gatos contra *B. bronchiseptica*, lo cual incrementa el riesgo de propagación incontrolada. Aunque en otros países como Estados Unidos la tasa de vacunación en perros alcanza aproximadamente el 68.7%, la cobertura no es universal y no evita por completo la circulación del patógeno. Además, las vacunas vivas atenuadas utilizadas en otros lugares pueden establecer latencia en animales vacunados, reactivándose ocasionalmente en individuos inmunocomprometidos (Shang et al 2024).

La presencia de *Bordetella bronchiseptica* en perros, tanto sanos como enfermos, ha sido ampliamente documentada en diferentes regiones de Europa entre los años 2000 y 2019. En Suecia, un estudio realizado entre 2000 y 2001 encontró que el 22% de los perros sanos no vacunados mayores de dos años presentaban anticuerpos específicos contra *B. bronchiseptica*, evidenciando una exposición previa al patógeno. Esta alta seropositividad en animales clínicamente sanos refleja la circulación endémica de la bacteria y su capacidad para persistir de manera subclínica en poblaciones caninas (Day et al. 2020).

En Alemania, estudios entre 2011 y 2012 en perros con signos clínicos de CIRDC, reportaron tasas de detección alarmantemente altas. Utilizando técnicas de PCR en hisopados nasales y faríngeos, se encontró que el 78.7% de los perros con enfermedad respiratoria eran positivos para *Bordetella bronchiseptica*, mientras que en perros sanos también se detectó en un 45.6%. Este hallazgo confirma que los perros aparentemente saludables pueden actuar como reservorios importantes para la diseminación de la bacteria en la población (Day et al. 2020).

Italia presentó cifras igualmente preocupantes. En un estudio no fechado específicamente, pero incluido en el rango de revisión entre 2000-2019, el 52% de los perros diagnosticados con CIRDC resultaron positivos para *B. bronchiseptica* mediante RT-PCR de muestras de garganta. De manera interesante, el análisis de la edad de los animales reveló que los perros menores de un año presentaban una tasa de positividad del 76%, comparado con 44% en animales de entre 1 y 7 años y 33% en perros mayores de 7 años, lo que sugiere una mayor susceptibilidad en poblaciones jóvenes (Day et al. 2020).

En Polonia, entre 2014 y 2015, la prevalencia de *B. bronchiseptica* en perros enfermos alcanzó el 30%, confirmando la participación activa de este patógeno en infecciones respiratorias en Europa Central (Day et al. 2020).

Estudios realizados en el Reino Unido entre 2016 y 2019, basados en el análisis de 1,602 muestras respiratorias caninas, encontraron tasas de detección de *Bordetella bronchiseptica* que fluctuaron entre 12.9% y 17.3%, dependiendo de la estación del año. Específicamente, la mayor prevalencia se observó en invierno (17.3%), seguido de verano (14.1%), otoño (13.6%) y primavera (12.9%). Esta variabilidad estacional sugiere un incremento de la transmisión durante los meses más fríos, probablemente asociado a cambios en los patrones de socialización de los perros y al aumento de actividades en interiores (Day et al. 2020).

Además de su alta prevalencia, la capacidad de *B. bronchiseptica* para persistir en el ambiente a diferencia de otras bacterias del mismo género y su habilidad para sobrevivir en asociación con amebas libres, representa un reto adicional para los programas de control y erradicación. Una característica particularmente problemática es su prolongado período de eliminación, los perros infectados pueden excretar la bacteria por semanas o incluso meses, facilitando su

transmisión a otros individuos, especialmente en contextos de alta densidad poblacional como refugios, criaderos y perreras (Day et al. 2020).

Otro aspecto relevante es su rol en coinfecciones. *Bordetella bronchiseptica* frecuentemente actúa en sinergia con virus respiratorios, como el virus de la parainfluenza canina (CPiV) y el coronavirus respiratorio canino (CRCoV), exacerbando el daño en el epitelio respiratorio y empeorando el cuadro clínico. La enfermedad típica se caracteriza por una tos seca paroxística, descargas nasales y, en casos más graves, bronconeumonía, pérdida de peso, disnea y, en raras ocasiones, muerte (Day et al. 2020).

Aunque existen vacunas disponibles para la profilaxis contra *Bordetella bronchiseptica*, la inmunidad inducida rara vez es completa. En la mayoría de los casos, la vacunación logra una reducción de los signos clínicos y de la excreción bacteriana, pero no previene completamente la infección. Esto significa que incluso perros vacunados pueden actuar como portadores subclínicos, manteniendo la circulación del patógeno en las poblaciones caninas (Day et al. 2020).

Un estudio prospectivo realizado entre diciembre de 2011 y mayo de 2012 en once refugios de animales de Estados Unidos (ubicados en estados de las regiones Este, Medio Oeste y Oeste) analizó la prevalencia de nueve patógenos respiratorios en perros clínicamente sanos utilizando pruebas de PCR en muestras oculares y oronasales. En total, se evaluaron 503 perros asintomáticos antes de su ingreso a las poblaciones residentes de los refugios (Lavan y Knesl 2015).

Los resultados mostraron que 47.7% de los perros (240/503) fueron positivos para al menos un patógeno respiratorio. Específicamente, *Bordetella bronchiseptica* fue detectada en 19.5% (98/503) de los perros analizados, lo que la posicionó como uno de los agentes infecciosos más comunes, sólo superada en frecuencia por *Mycoplasma cynos* (29.2%). Entre los perros que resultaron positivos a cualquier patógeno, *B. bronchiseptica* estuvo presente en el 40.8% de los casos (Lavan y Knesl 2015).

La importancia de *Bordetella bronchiseptica* no solo radica en su prevalencia individual, sino también en su asociación con coinfecciones. La bacteria fue detectada en 59.4% de los casos

donde se identificaron dos patógenos simultáneamente, en 78.9% de los casos con tres patógenos detectados y en un 100% de los casos con cuatro o cinco patógenos presentes (Lavan y Knesl 2015).

Este patrón sugiere que *Bordetella bronchiseptica* no solo persiste de forma aislada, sino que facilita y coexiste frecuentemente con otros patógenos, contribuyendo al desarrollo de infecciones respiratorias más complejas (Lavan y Knesl 2015).

Desde el punto de vista epidemiológico, la prevalencia de *B. bronchiseptica* fue relativamente consistente entre las distintas regiones de Estados Unidos incluidas en el estudio, indicando una distribución homogénea a nivel nacional (Lavan y Knesl 2015).

La *Bordetella bronchiseptica* constituye un patógeno de alta prevalencia en perros asintomáticos de refugios en Estados Unidos, representando un riesgo epidemiológico latente que contribuye significativamente a la circulación continua de enfermedades respiratorias infecciosas. Su papel como agente primario y como facilitador de coinfecciones refuerza la necesidad de estrategias de control robustas que integren vacunación, manejo ambiental y vigilancia epidemiológica activa (Lavan y Knesl 2015).

Entre julio de 2011 y julio de 2012, Schulz y colaboradores llevaron a cabo un estudio prospectivo en Alemania que analizó 151 perros, de los cuales 61 presentaban signos clínicos de infección respiratoria aguda y 90 eran clínicamente sanos. Los resultados obtenidos mediante PCR en muestras nasales y faríngeas revelaron cifras alarmantes: *Bordetella bronchiseptica* fue detectada en 78.7% de los perros con signos clínicos de CIRP y en 45.6% de los perros sanos. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($P < 0.001$), destacando el papel dominante de *B. bronchiseptica* en la etiología de las enfermedades respiratorias caninas (Schulz et al. 2014).

La elevada prevalencia en perros clínicamente sanos constituye un hallazgo crítico. Casi la mitad de los perros sin síntomas portaban *B. bronchiseptica*, lo que implica un riesgo latente de transmisión a individuos susceptibles. Esta capacidad de los portadores subclínicos para mantener la circulación del patógeno en la población canina, sin necesidad de manifestaciones clínicas, complica los esfuerzos de control epidemiológico (Schulz et al. 2014).

Asimismo, se detectó que 37.7% de los perros con CIRD presentaban coinfecciones, siendo las combinaciones más frecuentes entre *B. bronchiseptica* y otros virus respiratorios como el virus parainfluenza canino (CPIV) y el coronavirus respiratorio canino (CRCoV). Específicamente, infecciones conjuntas de *B. bronchiseptica* con CPIV se detectaron en el 27.9% de los perros enfermos. Estos hallazgos reflejan que *B. bronchiseptica* no solo actúa como patógeno primario, sino que también facilita la colonización y progresión de infecciones virales respiratorias, agravando la presentación clínica de los pacientes (Schulz et al. 2014).

Es importante destacar que el fenómeno de coinfección y portación asintomática de *B. bronchiseptica* no es exclusivo de Alemania. Estudios previos en el Reino Unido reportaron aislamientos de *B. bronchiseptica* en 62.8% de los perros con signos respiratorios y en 34.6% de los perros sanos alojados en refugios. Estos datos, aunque provenientes de contextos geográficos distintos, refuerzan la idea de que *B. bronchiseptica* mantiene una distribución global amplia y una dinámica de infección silenciosa que perpetúa los brotes de CIRD (Schulz et al. 2014).

El estudio concluye que *Bordetella bronchiseptica* es no solo el patógeno respiratorio más prevalente en perros con CIRD en el sur de Alemania, sino también un factor de riesgo importante entre perros sanos. Estos hallazgos subrayan la necesidad urgente de reforzar las estrategias de prevención, incluyendo vacunación sistemática, mejores protocolos de manejo en refugios y campañas de concienciación dirigidas a los propietarios de mascotas (Schulz et al. 2014).

En Ecuador, el estudio serológico sobre el adenovirus canino tipo 2 (CAV-2) en un grupo de 47 caninos mostró una prevalencia del 8,51%. A pesar de mantener un calendario vacunal vigente, estos resultados indican que la protección conferida por la vacunación no es completa, lo cual sugiere la necesidad de mejorar las estrategias vacunales o explorar alternativas adicionales para una inmunización más efectiva (Burgos Mayorga et al., 2022).

En Perú, la detección molecular de *Bordetella bronchiseptica* reveló que, de 45 muestras, el 4,45% fueron positivas a la especie *B. bronchiseptica* y el 2,22% al género *Bordetella*. Estos resultados son significativos dado que los caninos afectados presentaban síntomas severos como

tos productiva, vómitos, inapetencia y sedentarismo, y pertenecían a grupos etarios susceptibles (Flores, 2023).

En Colombia, una revisión realizada en 2021, se concluyó que la traqueobronquitis infecciosa canina es una enfermedad de etiología multifactorial y que no existe un tratamiento profiláctico completamente eficaz. El manejo tiende a ser paliativo, utilizando principalmente antitusivos para aliviar la tos paroxística característica de la enfermedad (Varela Mejía et al., 2021).

Estos son solo algunos estudios destacan la prevalencia moderada de los agentes patógenos involucrados y evidencian las limitaciones de las medidas profilácticas actuales, a necesidad de mejorar y desarrollar tratamientos más efectivos es muy evidente, se destaca importancia de la investigación continua para reducir la incidencia y mejorar la calidad de vida de los caninos afectados.

Diversos estudios han demostrado que el tratamiento de esta condición se basa predominantemente en el uso de antibióticos, entre los antibióticos más utilizados se encuentran los betalactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos, fluoroquinolonas y la combinación de sulfametoxazol y trimetoprima.

El manejo profiláctico de la traqueobronquitis infecciosa canina se enfoca principalmente en la prevención de la exposición a otros animales infectados, se aplica la vacuna específica contra los agentes patógenos responsables de esta enfermedad y se enfatiza la importancia de mantener estrictas reglas de higiene y proporcionar una buena nutrición a los animales como medidas complementarias para prevenir la infección. (López Silva Santiesteban, 2018)

Es importante destacar que no existe actualmente una formulación que se utilice como coadyuvante para la profilaxis de esta enfermedad, no hay estudios concluyentes que respalden el uso del extracto de *Echinacea purpurea* como una alternativa efectiva de uso profiláctico para la traqueobronquitis infecciosa canina.

1.2.2 Problemática a nivel local:

- Evolución a nivel nacional de la problemática
- Causas y consecuencias de la problemática a nivel nacional.

La traqueobronquitis infecciosa canina es una enfermedad que puede llegar a afectar considerablemente a la población perruna que se encuentre en una situación de vulnerabilidad como cachorros menores de 6 meses y geriátricos más sensibles, aunque puede afectar a animales de todas las edades, como diversos mamíferos, entre ellos cobayas, conejos, cerdos, entre otros (López, 2018.).

Dentro de los principales agentes causales víricos se encuentran los adenovirus caninos (CAV 1, CAV 2), el virus de la parainfluenza, el reovirus canino, el herpesvirus canino y, el coronavirus respiratorio canino y la principal bacteria implicada es *Bordetella bronchiseptica* (Zoetis, nd.).

Según una nota del observador en Costa Rica, hay algunas enfermedades respiratorias que afectan a los caninos, para las cuales existen vacunas que previenen el avance de la patología. Dentro de estas se encuentra el moquillo canino, la cual es una enfermedad sistémica, que tiene un inicio respiratorio y una vez migra al sistema nervioso tiene efectos muy severos. Además, encontramos la tos de las perreras que suele tener origen en sitios donde se asienta una comunidad grande de animales como en la perreras y centro de cuidado (Mena, 2023.).

Como alternativa en Costa Rica, se aplican vacunas para tratar la tos por vía intranasal o inyectable y se encuentran dos versiones. El plazo de efectividad de las vacunas cubre un periodo de 10 meses, es importante considerar cada cuanto se administra y el nivel de exposición que tenga el perro a contraer la enfermedad, pues la se puede contraer no sólo en los sitios previamente mencionados, sino también durante un paseo al parque, sitios de juego, veterinarias, criaderos, tiendas de mascotas, entre otros (Agromedica H. V, 2022.).

El laboratorio Himalaya puso a prueba en un grupo de 10 individuos, específicamente en el cantón de Vásquez de Coronado, que cumplían con síntomas indicativos de la TIC. Como tratamiento de elección se administran tetraciclinas en este caso específico se indicó doxiciclina 5 mg/Kg cada doce horas por un periodo de 10 días y en conjunto se administró Immunol®

jarabe como coadyuvante con el fin de mejorar la acción del sistema inmunológico, tras 8 días de dar inicio con la toma del tratamiento, se sometió a pruebas a los 10 animales, y se comprobó que ninguno poseía signos compatibles con TIC, para ese momento, por lo que se dio por concluido el tratamiento (Brizuela Elizondo & Rodríguez Bolaños, 2017.).

En Costa Rica, para la TIC como tratamiento alternativo reportado se han propuesto terapias de apoyo que incluyen el uso de antibióticos, corticosteroides, mucolíticos, broncodilatadores o antitusivos para disminuir la gravedad de los signos clínicos de esta enfermedad (Zamora, 2023.). Por otro lado, considerando el hecho que el uso de antibióticos sin previo antibiograma ha llevado a que las bacterias generen resistencias a varios antimicrobianos, comprometiendo el régimen efectivo de las infecciones y logrando llegar a provocar un inconveniente de salud pública (López, 2018.).

Este hecho ha llevado a considerar que no existe en Costa Rica una formulación a base de extractos de *Echinacea Purpurea* como coadyuvante en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros.

- Pregunta de investigación

La *Echinacea purpurea* es una planta medicinal ampliamente estudiada por sus propiedades inmunoestimulantes y antiinflamatorias, especialmente en el tratamiento de infecciones respiratorias en humanos y otras especies animales (Manayi et al., 2015). Sus metabolitos activos, como los alquilamidas, los polisacáridos y los derivados del ácido cafeico, han demostrado modular la respuesta inmune mediante la activación de macrófagos y la regulación de citocinas proinflamatorias (Bauer, 2019).

En el ámbito veterinario, algunos estudios han evaluado el uso de la equinácea en animales de producción y mascotas, mostrando efectos positivos en la reducción de enfermedades infecciosas (Gertsch et al., 2018). Sin embargo, en el caso de los caninos en Costa Rica, la investigación sobre la aplicación de esta planta en enfermedades respiratorias como la

traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) es limitada o inexistente. La TIC, también conocida como "tos de las perreras", es una enfermedad altamente contagiosa causada por patógenos como *Bordetella bronchiseptica* y virus respiratorios, lo cual genera la necesidad de enfoques terapéuticos efectivos y seguros (Ford, 2017).

El estudio de los metabolitos activos de la *Echinacea purpurea* en el contexto de la salud inmunitaria y respiratoria de los perros con TIC podría aportar información valiosa sobre su efectividad como tratamiento alternativo o complementario. Su implementación en establecimientos veterinarios y refugios de animales en Costa Rica podría representar un avance significativo en el manejo de esta patología, reduciendo la dependencia de antibióticos y otros fármacos sintéticos. Además, una nueva forma de aplicación de la equinácea, como suplementos o formulaciones específicas para perros, podría optimizar su absorción y biodisponibilidad, aumentando su eficacia terapéutica (Kuznetsova et al., 2020).

Por lo tanto, esta investigación busca identificar los metabolitos activos responsables de los efectos terapéuticos de la *Echinacea purpurea* en caninos con traqueobronquitis infecciosa y evaluar cómo su aplicación en el ámbito veterinario puede impactar positivamente la salud animal en Costa Rica.

¿Cuáles son los metabolitos activos de la *Echinacea Purpurea* que brindan una respuesta terapéutica para mejorar la salud inmunitaria y respiratoria en perros con traqueobronquitis infecciosa, y cómo puede esta nueva forma de aplicación impactar positivamente el cuidado veterinario?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Diseñar una formulación a base de extracto de *Echinacea Purpurea* como coadyuvante en la prevención de la traqueobronquitis infecciosa en perros, para proporcionar una alternativa natural profiláctica en la mejora de la salud respiratoria de los caninos en ambientes de alta densidad.

1.3.2. Objetivos específicos

- Indagar las causas de la patología de Traqueobronquitis Infecciosa en caninos y los factores apremiantes de su transmisión, para determinar los mecanismos y patógenos responsables de la respuesta inmune del canino y el daño tisular que causa en el sistema respiratorio.
- Caracterizar el extracto de raíces y hojas de la *Echinacea purpurea* mediante análisis fitoquímicos para caracterizar los compuestos bioactivos (metabolitos) con potencial inmunoestimulante y antimicrobiano presentes en el extracto
- Desarrollar y optimizar una formulación a base de *Echinacea purpurea* que se administre vía oral y que pueda funcionar como un agente inmunomodulador profiláctico de la enfermedad de TIC considerando parámetros de estabilidad, biodisponibilidad y palatabilidad para su administración en caninos.

1.4. Justificación

La salud animal ha sido uno de los tópicos por discutir desde hace mucho tiempo y ha ido aumentando con las leyes de protección animal que se han desarrollado año tras año, como se conoce la atención a la salud del animal se basa en el tratamiento de los padecimientos una vez que se manifiesta cierto síntoma. Es por esto que dar seguimiento en profilaxis para evitar el desarrollo de ciertas patologías que se pueden ocasionar por condiciones de vivienda del animal, como es el caso de la tos de las perreras es importante para garantizar un ambiente de vivienda adecuado para altas densidades de poblaciones en perros. Entre temas de importancia a destacar

se encuentra el conocimiento de los agentes que causan la tos de las perreras, las campañas de vacunación y las pautas terapéuticas (Hernández, 2021, págs. 8-9), además, una de las preocupaciones a tomar son las medidas profilácticas sanitarias en caso de TIC.

La importancia de desarrollar la investigación se basa en que no existen alternativas naturales claras que permitan brindar una protección efectiva al animal sin comprometer su salud o avance del tratamiento con antibióticos, por lo tanto, se plantea el diseño de una formulación a base de extractos de *Echinacea Purpurea* y su aplicación como coadyuvante en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros como una opción que permita fortalecer el sistema inmunológico del animal y por sus múltiples propiedades contribuya a reducir la inflamación que ocasiona la dificultad respiratoria para poblaciones de perros que estén propensos a adquirir la enfermedad.

La World Small Animal Veterinary Association, institución encargada de emitir las directrices acerca de las novedades en las vacunas de perros y gatos, brinda consejos de cómo se deben aplicar las buenas prácticas de vacunación a nivel mundial. Ellos consideran que la vacuna no es esencial, sino que depende del estilo de vida y vulnerabilidad del canino. Si bien, no se considera indispensable, en ciertas circunstancias se deberá efectuar la vacunación como método de prevención (Hernández, 2021, págs. 8-9). Es fundamental destacar que lo que se plantea realizar es un coadyuvante que sea un profiláctico para impedir la presencia de la tos de las perreras en ambientes complicado, y evitar que se llegue al término de la vacunación y posterior cuarentena.

Por lo anterior, se pretende que la realización de este proyecto de paso a la elaboración del diseño de una formulación que pueda funcionar como una manera alternativa que permita el aprovechamiento de las propiedades de la *Echinacea Purpurea* y dar una opción a la comunidad que encaja en el perfil de criaderos, veterinarias, centro de adopción, entre otros, para prevenir el contagio de la traqueobronquitis infecciosa y minimizar los riesgos en los individuos con factores de vulnerabilidad a una condición grave con secuelas o incluso la muerte.

En una investigación realizada sobre el tratamiento de infecciones crónicas y estacionales del tracto respiratorio superior en caninos, se compararon las condiciones de los perros antes y después de ser tratados con un preparado a base de hierbas que contenía raíz en polvo de *Echinacea purpurea*, en el que se mostraron reducciones significativas en la severidad y resolución de los síntomas clínicos típicos de estas infecciones, tales como secreciones nasales claras, agrandamiento de ganglios linfáticos, tos seca, disnea y sonidos pulmonares secos. Estas mejorías fueron evidentes después de cuatro semanas de tratamiento. (J.Reichamiento et al.,2003)

Se podrá utilizar una formulación a base del extracto de *Echinacea purpurea* para la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros, esto podría representar un avance significativo en la veterinaria. La eficacia de esta formulación podría favorecer la reducción de la severidad de los síntomas respiratorios y promover una mejor calidad de vida en los perros si fuesen afectados. Además, la utilización de extractos naturales podría ofrecer una alternativa viable y bien tolerada en comparación con los tratamientos convencionales, contribuyendo así a la disminución de la dependencia de antibióticos y otros medicamentos sintéticos.

Este proyecto de investigación puede aportar conocimiento al investigar el uso de extractos de *Echinacea Purpurea* como una alternativa natural para la prevención de la traqueobronquitis infecciosa en perros, en busca de efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios específicos de los metabolitos secundarios de *Echinacea Purpurea* en el tracto respiratorio de los perros, proporcionando una base científica para el desarrollo de nuevas terapias naturales para enfermedades respiratorias en animales.

1.5. Antecedentes:

El desarrollo de un tratamiento inhalado a base de *Echinacea Purpurea* para perros con dificultades respiratorias ofrece múltiples beneficios significativos para la salud inmunitaria y respiratoria. La *Echinacea Purpurea*, conocida por sus propiedades inmunoestimulantes, puede fortalecer el sistema inmunológico en estos animales, ayudándoles a combatir infecciones y

reducir la frecuencia de enfermedades respiratorias. La administración inhalada permite una absorción rápida y directa en el sistema respiratorio, mejorando la eficacia del tratamiento y proporcionando alivio inmediato.

Esta nueva forma de aplicación no solo optimiza la entrega de los compuestos bioactivos de la Echinácea, sino que también reduce el estrés asociado con los tratamientos orales o inyectables, mejorando la experiencia tanto para los animales como para los veterinarios. En consecuencia, el cuidado veterinario puede beneficiarse significativamente, pues los tratamientos inhalados pueden facilitar la gestión de enfermedades respiratorias crónicas, aumentar la adherencia a los tratamientos y mejorar la calidad de vida de los perros afectados.

1.5.1 Históricos

Este artículo elaborado por Perry y colegas en 1997 recaba información y describe un procedimiento rápido de extracción, limpieza y RPLC adecuado para análisis cuantitativos de rutina de niveles de alcanida en extractos de *Echinacea purpurea*. Se informan los espectros de ^{13}C -NMR de las principales dienodiino alcanidas en *E. purpurea*. Los niveles de alcanida difirieron significativamente entre raíces, rizomas, tallos, hojas y flores de *E. purpurea*. Las raíces se distinguieron de otras partes de la planta por niveles más altos de dienodiino alcanidas C12, mientras que los niveles de tetraeno-alcanidas C12 y dienodiino C11 fueron más altos en los tallos vegetativos. La proporción de las dos tetraenoalcanidas C12 estereoisoméricas difería entre las flores y todas las demás partes de *E. purpurea*. Estos resultados son importantes para la estandarización de preparaciones medicinales de *E. purpurea* (Perry et al., 1997).

En el año 1999, Wolfram Grimm MD y Hans-Helge Málller investigaron sobre los extractos de fluidos de *Echinacea purpurea* se utilizan ampliamente para la prevención y tratamiento de resfriados e infecciones respiratoria, lo hicieron realizando un ensayo controlado aleatorizado del efecto del extracto de líquido de *Echinacea purpurea* sobre la incidencia y gravedad de los resfriados y las infecciones respiratorias, se obtuvo en el tratamiento de 8 semanas, 65% del grupo Echinacea y 74% del grupo placebo tuvieron infecciones respiratorias [RR = 0,88; IC 95% (0,60, 1,22)], en la que la media de infecciones fue de 0,78 para Echinacea y 0,93 para

placebo [P = 0,33]. La duración media fue de 4,5 días para Echinacea y 6,5 días para placebo (P = 0,45). No hubo diferencias significativas en la gravedad ni en los efectos secundarios (20% en Echinacea vs. 13% en placebo; P = 0,44). Se concluyó que el tratamiento con extracto líquido de *Echinacea purpurea* no disminuyó significativamente la incidencia, duración o gravedad de los resfriados y las infecciones respiratorias en comparación con placebo. (Grimm MD & Málller, 1999, 138-143)

Desde el año 1999, Joachim Roesler y sus colaboradores, investigaron la aplicación de polisacáridos purificados de cultivos celulares de la planta *Echinacea purpurea* para probar sujetos media la activación del sistema de fagocitos, estos fueron probados por su capacidad para activar los fagocitos humanos in vitro e in vivo, se demostró que los monocitos secretan TNF- α , IL-6 e IL-1, sin afectar la expresión de la clase II, pero la aplicación IV de polisacáridos provocó una caída en el número de PMN en la sangre periférica, seguida de leucocitosis con aumento de PMN y monocitos, y la aparición de células inmaduras indicó migración desde la médula ósea. Se logró concluir que al igual que en ratones, los polisacáridos podrían inducir reacciones agudas de fase y activación de fagocitos en humanos. Se discute la posibilidad de uso clínico. (Roesler et al., 1991, 931-941)

Un grupo de investigadores encabezado por Goel realizaron un estudio in vivo en ratas para examinar los efectos inmunomoduladores de varios niveles de dosis de tres componentes, aislados y purificados de *Echinacea purpurea*. Los componentes son ácido cichórico, polisacáridos y alquilamidas. Las ratas fueron administradas por vía oral dos veces al día durante 4 días con tres concentraciones diferentes de cada uno de los componentes de la equinácea. Entre los componentes, las alquilamidas aumentaron significativamente la actividad fagocítica, así como el índice fagocítico de los macrófagos alveolares también produjeron significativamente más TNF- α y óxido nítrico después de una estimulación in vitro con LPS que cualquier otro componente activo o el control. Los resultados sugieren que las alquilamidas son uno de los constituyentes activos de la planta *E. purpurea* estimulan eficazmente la función de los macrófagos alveolares en ratas sanas (Goel et al., 2002).

En el 2002, Grieshop Christine y sus colaboradores investigaron los efectos de arabinogalactano en eventos digestivos y estado inmunológico de perros adultos sanos, se utilizaron siete perros hembras adultos de raza a propósito con linajes de sabueso y un peso promedio de 24,3 kg, fueron alimentados con 250 g de una dieta común a las 08.00 y 2000 h diarios para un total de 500 g/d, se logró demostrar que arabinogalactano ácido de cultivos de células vegetales de *Echinacea purpurea* fue eficaz para activar los macrófagos a la citotoxicidad contra células tumorales y microorganismos, se llegó a la conclusión que los nutrientes, la digestión, las concentraciones microbianas fecales y las concentraciones de linfocitos séricos se vieron afectadas por dosis específicas y formas de arabinogalactano. (Fahey et al., 2002, 478-482)

Giuseppina Mattace Raso y sus colaboradores, en el año 2002, evaluaron la actividad antiinflamatorio contra el edema de pata inducido por carragenina en ratones de la *Echinacea purpurea* (L.) Moench y *Hypericum perforatum* (L.), se realizó administrando por VO a ratones a 30 y 100 mg kg dos veces al día, el análisis de la mancha occidental mostró que el tratamiento in-vivo con estos extractos podría modular el lipopolisacárido y la ciclooxigenasa-2 inducida por interferón y la expresión de óxido nítrico inducible en macrófagos peritoneales. Se concluyó en el estudio que el efecto antiinflamatorio de estos extractos podría estar relacionado en parte con su modulación de la expresión COX-2. (Mattace Raso et al., 2002, 1379-1383)

J. Reichamiento y sus compañeros en el año 2003, investigaron sobre el tratamiento para infecciones del tracto respiratorio superior crónica canina y estacional, realizó una comparación de las condiciones antes y después del tratamiento con un preparado a base de hierbas, que contenía la raíz en polvo de *Echinacea purpurea* utilizando un estándar analítico y pruebas de pureza, se demostraron reducciones significativas de la severidad y resolución de los síntomas clínicos típicos, de secreciones nasales claras, agrandamiento de ganglios linfáticos, tos seca, disnea y sonidos de pulmón seco, fueron evidentes después de 4 semanas. Se concluyó que debido a que la calidad y estabilidad del polvo de Echinacea, estos datos sugieren que la preparación puede ser recomendada como un tratamiento alternativo bien tolerado de infecciones del tracto respiratorio superior canino. (J. Reichamiento et al., 2003)

Se llevó a cabo un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo para evaluar la capacidad de *Echinacea purpurea* para prevenir la infección por rinovirus tipo 39 (RV-39) por Sperber y sus colegas en 2004. Los cuarenta y ocho adultos previamente sanos recibieron equinácea o placebo, 2,5 ml 3 veces al día, durante 7 días antes y 7 días después de la inoculación intranasal con RV-39. Se evaluaron los síntomas para evaluar la enfermedad clínica. Se realizaron cultivos virales y estudios serológicos para evaluar la presencia de infección por rinovirus. Un total de 92% de los que recibieron equinácea y 95% de los que recibieron placebo estaban infectados. Se desarrollaron resfriados en el 58% de los que recibieron equinácea y en el 82% de los que recibieron placebo ($P = 0,114$, según la prueba exacta de Fisher). Como resultado la administración de equinácea antes y después de la exposición al rinovirus no disminuyó la tasa de infección; sin embargo, debido al pequeño tamaño de la muestra, las pruebas de hipótesis estadísticas tuvieron un poder relativamente pobre para detectar diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia y gravedad de la enfermedad (Sperber et al., 2004).

En la evaluación de los efectos protectores de la *Echinacea purpurea* contra la radiación estudiando los cambios en el recuento de células de la sangre periférica y la actividad antioxidante de la sangre periférica realizada por Mishima y demás equipo en 2004. Se llevó a cabo un estudio experimental en ratones donde se le administró *E. purpurea*, la cual tuvo un efecto supresor sobre la leucopenia inducida por la radiación, especialmente en linfocitos y monocitos, y resultó en una recuperación más rápida de los recuentos de células sanguíneas. También se observó un aumento de la actividad antioxidante de la sangre periférica del ratón y se sugirió una relación entre el efecto supresor de la leucopenia inducida por radiación y el efecto antioxidante. Se investigó el efecto de la activación inmune midiendo las inmunoglobulinas totales (IgG, IgM). Finalmente, se concluyó que la *E. purpurea* activa los macrófagos para estimular la producción de IFN- γ en asociación con la activación secundaria de los linfocitos T, lo cual resulta en una disminución en la producción de IgG e IgM, estos resultados reflejan respuestas inmunes mediadas por células (Mishima et al., 2004).

En un ensayo antiviral de 2005 realizado por Vimalanathan y su equipo se evaluó la actividad antiviral de las fracciones en relación con la composición química y la distribución dentro de la

planta. Todas las fracciones acuosas contenían una potente actividad contra el virus del herpes simple y el virus de la gripe. Sin embargo, aunque parte de esta actividad podría atribuirse a los componentes de polisacárido y ácido cichórico, sus contribuciones individuales no podrían explicar la actividad antiviral total; deben estar presentes otros antivirales potentes. Además, las fracciones solubles en etanol y acetato de etilo de las hojas y el tallo contenían un fotosensibilizador antiviral no caracterizado pero potente, que estaba ausente en el extracto de flores. Como conclusión, los supuestos beneficios de la *Echinacea purpurea* de estos extractos se pueden atribuir a la presencia de compuestos antiinfluenza y anti-VHS (Vimalanathan et al., 2005).

Desde el 2005, N. Maass y sus colaboradores examinan la inclusión de la hierba seca *Echinacea purpurea* como aditivo en alimentación en dietas de cerdas, lechones y cerdos, para determinar el rendimiento del crecimiento, imagen sanguínea, enzimas plasmáticas incluyendo la proliferación de linfocitos, estado de anticuerpos y contenido de proteína y globulina inmune de calostro. Se demostró que la suplementación con cobs de Echinacea no afectó negativamente el rendimiento del crecimiento, la salud ni otros parámetros medidos en cerdas y lechones, y mostró mejoras en la conversión de piensos y la respuesta inmune en ciertos casos. Se concluye que *E. purpurea* podría utilizarse como aditivo para piensos para lograr la eficiencia inmune estimulante en la producción porcina y aumentar la conversión de piensos a las ganancias, la eficiencia de las cintas es comparable a un producto comercial de jugo. (N. Maass et al., 2005, 244-252)

Woelkart, K y sus colaboradores en el 2006, realizaron una comparación de la biodisponibilidad de alcaloides de preparaciones líquidas y en tabletas de *E. purpurea* en humanos y estudiar sus efectos en células sanguíneas estimuladas ex vivo, se realizó un estudio en 10 voluntarios, recibieron 4 ml de tintura de *E. purpurea*, 12 tabletas de *E. purpurea* o placebo, ambas dosis contenían 0,07 mg de las principales alcaloides, se midió mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de trampa de iones por electrospray y la estimulación ex vivo de sangre por LPS, se demostró que ambas preparaciones tuvieron los mismos efectos en las citoquinas proinflamatorias TNF- α e IL-8, se encontró una significativa regulación negativa de TNF- α e IL-8 en sangre completa pre estimulada con LPS 23 horas

después de la aplicación oral y se absorbió un cuarto de las alcanidas de las tabletas en comparación con la tintura. Se concluyó que ambas formulaciones de *E. purpurea*, líquida y en tabletas, tienen efectos similares en el sistema inmunológico, a pesar de que las tabletas tienen una menor absorción de alcanidas. (Marth E et al., 2006, 401)

En el 2007, Shah y sus compañeros llevaron a cabo un metaanálisis que evaluó el efecto de la equinácea sobre la incidencia y duración del resfriado común. La incidencia del resfriado común se reportó como un odds ratio (OR) y duración del resfriado común como la diferencia de medias ponderadas (DMP) con IC. Los promedios ponderados y las diferencias de medias se calcularon mediante un modelo de efectos aleatorios (metodología de DerSimonian-Laird). La equinácea disminuyó las probabilidades de desarrollar un resfriado común en un 58% (OR 0,42; IC del 95%: 0,25–0,71; estadístico Q $p < 0,001$) y la duración de un resfriado en 1,4 días (DMP -1,44, -2,24 a -0,64). La evidencia publicada respalda el beneficio de la equinácea en la disminución de la incidencia y la duración del resfriado común (Shah et al., 2007).

En el 2007, H. Sala y sus compañeros, examinaron los efectos de la *Echinacea purpurea* sobre la inmunidad mucosa, la incidencia y duración de la infección del tracto respiratorio superior, se realizó un estudio en 32 personas que completaron un protocolo de ejercicio conocido por afectar la inmunidad mucosa y la saliva fue recogida antes y cinco minutos después de concluir las pruebas de ejercicio, se demostró que el ejercicio redujo las concentraciones de s-IgA y la tasa de secreción de s-IgA en ambos grupos al inicio del estudio, y luego de la intervención, solo el grupo placebo mostró disminuciones significativas en s-IgA, por lo que no hubo diferencias significativas en el número de URTI entre los grupos, pero la duración de las infecciones fue menor en el grupo Echinacea (3,4 días vs. 8,6 días en el grupo placebo). En conclusión, la Echinacea puede atenuar la supresión inmune mucosa conocida por ocurrir con ejercicio intenso y reducir la duración de la URTI en la que incurre los sujetos. (H. Sala et al., 2007, 792-797)

En el estudio sobre las actividades antioxidantes y antimicrobianas de los extractos de *Echinacea purpurea* L., del año 2009, el equipo de Ivana Stanisavljević y colaboradores evaluó la eficiencia de diferentes técnicas de extracción en la obtención de compuestos bioactivos. La metodología incluyó la extracción clásica con solventes y la extracción asistida por ultrasonido utilizando etanol al 70 %. Se determinaron las concentraciones de compuestos fenólicos y

flavonoides, así como las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de los extractos obtenidos. Los resultados indicaron que la extracción clásica produjo un mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en comparación con la extracción por ultrasonido. Además, los extractos mostraron una capacidad significativa para eliminar radicales libres, siendo mayor en los obtenidos por el método clásico. En cuanto a la actividad antimicrobiana, se observó una inhibición notable del crecimiento de *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*, aunque no se detectó actividad contra *Aspergillus niger*. El estudio concluye que los extractos de *Echinacea purpurea* L. representan una fuente importante de compuestos bioactivos con potencial antioxidante y antimicrobiano. Se recomienda la extracción clásica como el método más eficiente para preservar estas propiedades. (Stanisavljević et al., 2009).

Este estudio efectuado por Chicca y otros especialistas en 2009, se centra en la acción cannabinomoduladora de las combinaciones de N-alquilamida que se encuentran actualmente en la medicina herbaria estandarizada de *E. purpurea* Echinaforce™(ECF). Además, proporciona evidencia de una sinergia entre los lípidos de Echinacea, lo cual sugiere que las mezclas de N-alquilamida de raíces y hierbas probablemente median efectos antiinflamatorios e inmunofarmacológicos superiores a los compuestos individuales. Los resultados obtenidos indican que la expresión de la citoquina antiinflamatoria IL-10 se superestimuló significativamente, la expresión de la proteína proinflamatoria TNF- α se inhibió más fuertemente con la combinación de los extractos. Se muestra que las N-alquilamidas actúan en conjunto y ejercen efectos pleiotrópicos modulando el sistema endocannabinoide al atacar simultáneamente el receptor CB2, el transporte y la degradación de endocannabinoides (Chicca et al., 2009).

Mrozikiewicz y un grupo de profesionales en 2010, investigaron la posible influencia del extracto estandarizado de *Echinacea purpurea* en el nivel de expresión del ARNm de las principales enzimas CYP450 utilizando un modelo animal. En este estudio, se demostró un aumento significativo del nivel de expresión de CYP2D1 y CYP1A1 en ratas en un 40%, un débil efecto inductor del extracto para CYP1A2 en comparación con el grupo de control. Los niveles de ARNm de CYP3A1 y CYP3A2 de rata se redujeron en un 41% y un 25%, respectivamente. Se observó un efecto inhibitor débil para CYP2D2 en un 15% y CYP2C6 en

un 18% después de la aplicación prolongada del extracto etanólico de Equinácea. Los datos in vivo indican que el extracto etanólico de Equinácea puede inhibir potencialmente la expresión de CYP3A1/2 y también puede inducir CYP1A1, CYP2D1. Lo que sugiere que la equinácea puede influir en el metabolismo mediado por P450 de diferentes fármacos e iniciar la carcinogénesis química mediante la activación de algunos compuestos a sus metabolitos cancerígenos (Mrozikiewicz et al., 2010).

En este estudio realizado en 2010, por Fusco y otros colaboradores, se evaluó el efecto del extracto de polisacárido aéreo de *E. purpurea* sobre la respuesta clínica, viral y de citoquinas a la infección por influenza en un modelo de ratón vivo. Los ratones infectados con WSN influenza A y tratados con extracto de polisacárido de *E. purpurea* tuvieron menos pérdida de peso que los ratones no tratados, pero títulos virales pulmonares similares. Los ratones tratados con equinácea tuvieron niveles más bajos de KC e IL-10 sistémicos y pulmonares y niveles sistémicos más bajos de IFN- γ después de la infección por influenza. Estos sugieren que *E. purpurea* altera el curso clínico de la infección por influenza en ratones mediante la modulación de citocinas y no mediante la actividad antiviral directa (Fusco et al., 2010).

Tsai y otros colaboradores, en 2012 elaboraron un estudio que evaluó los efectos de la concentración de etanol y la temperatura de extracción sobre la calidad de los extractos obtenidos de flores liofilizadas de *Echinacea purpurea*. También se examinaron los efectos antioxidantes y antimutagénicos del extracto de flores. Las condiciones óptimas de extracción para las flores liofilizadas fueron etanol acuoso al 50 % y una temperatura de extracción de 65 °C, con un rendimiento de extracción del 37,4 %. El extracto de flor etanólico al 50% no mostró toxicidad ni mutagenicidad hacia *Salmonella typhimurium*. El extracto etanólico exhibe un efecto inhibitor dosis dependiente contra la mutagenicidad del 2-aminoantraceno. Por lo tanto, el extracto etanólico de flor de *E. purpurea* liofilizado exhibe buenas actividades antioxidantes y antimutagénicas (Tsai et al., 2012).

Este estudio fue diseñado para investigar los efectos antiinflamatorios de los aceites esenciales de *E. purpurea* tanto en ratones como en ratas y fue llevado a cabo por Yu y su equipo

en 2012. El extracto fue obtenido de la flor de *E. purpurea* por destilación al vapor. El potencial antiinflamatorio fue evaluado in vivo por utilizando diferentes modelos animales, como edema de oreja de ratón inducido por xileno, edema de pata de rata inducido por clara de huevo y algodón Inflamación proliferativa del tejido de granuloma inducida en ratones. Las dosis seriadas se utilizaron in vivo: la dosis baja, la dosis media y dosis alta. Las dosis bajas, medias y altas de extractos produjeron inhibiciones del 39,24%, 47,22% y 44,79% respectivamente en el edema de oído inducido por xileno en comparación con el grupo control. Los resultados revelaron que las citocinas proinflamatorias como IL-2, IL-6 y TNF- α en la sangre se redujeron en los grupos tratados y los aceites esenciales de extractos de *E. purpurea* tienen efectos antiinflamatorios (Yu et al., 2012.).

M. Jawad y sus colaboradores en el año 2012, investigaron la seguridad y eficacia del uso de extracto de *Echinacea Purpurea* en la prevención de síntomas asociados a resfriados comunes en una población grande por un periodo de 4 meses. Como metodología se le asignó a 755 individuos sanos tomar un extracto hidroalcohólico de *EP* donde reportaron los efectos adversos y evaluaron los problemas relacionados con el resfriado durante el intervalo de tiempo establecido para la investigación, para comprobar los resultados se tomaron muestras de las secreciones nasales en busca del virus, se obtuvo que la equinácea mostró efectos máximos sobre las infecciones recurrentes y los efectos preventivos aumentaron con el cumplimiento del tratamiento y el protocolo. Por lo tanto, se concluyó que la ingesta profiláctica de *E. purpurea* proporciona una relación riesgo beneficio positiva (Jawad et al., 2012).

1.5.2 Internacionales

En la revisión sobre la seguridad de los preparados orales de *Echinacea*, realizada en 2016 por Karin Ardjomand-Woelkart y Rudolf Bauer, se evaluó la literatura disponible sobre interacciones farmacológicas, contraindicaciones, efectos adversos y seguridad en poblaciones especiales. La metodología incluyó el análisis de estudios clínicos y preclínicos, con énfasis en la evaluación de interacciones con enzimas hepáticas y la tolerabilidad de los extractos en diversas condiciones médicas. Los resultados indicaron que los preparados estandarizados de

Echinacea purpurea no inhiben significativamente las enzimas CYP2D6 y CYP3A4 en humanos, aunque algunos estudios con microsomas hepáticos han reportado efectos contradictorios. Los eventos adversos observados en ensayos clínicos fueron generalmente leves y sin una relación causal clara. Los estudios a largo plazo no evidenciaron preocupaciones toxicológicas, permitiendo recomendar su uso prolongado. En relación con enfermedades autoinmunes e inmunosupresión, se encontraron indicios de que los extractos lipofílicos que contienen alcaloides pueden modular la respuesta inmune, con posibles beneficios en casos de autoinmunidad. También, se revisó la seguridad durante el embarazo, sin hallarse una asociación con malformaciones fetales. Se concluye que los preparados de *Echinacea* son bien tolerados y seguros para su uso en adultos y niños, desafiando algunas contraindicaciones tradicionales y sugiriendo su potencial inmunomodulador. (Ardjomand-Woelkart & Bauer, 2016).

La investigación de caracterización de los filoxantobilinas en *Echinacea purpurea* realizada por Cornelia A. Karg y compañía, en el año 2019, se utilizó la cromatografía líquida de alta resolución para los extractos, la espectroscopía de absorción ultravioleta y visible, la espectrometría de masas en tándem (MS/MS), ensayos FRAP, medición de la fluorescencia H2DCF-DA y la evaluación de los niveles de GSH celular, se demostró la absorción de filoxantobilinas por las células endoteliales del riñón humano, al investigar la actividad antioxidante se demostró una potente actividad *in vitro*. Además, las filoxantobilinas poseen capacidad de eliminación de ROS intracelular y pueden prevenir el estrés oxidativo según lo evaluado por los niveles celulares totales de GSH. De este estudio, se concluye que las filoxantobilinas son componentes importantes de los extractos de *Echinacea purpurea* y que los estudios exploratorios apuntan a bioactividades prometedoras de estos productos naturales. (Karg et al., 2019)

La evaluación del perfil de compuestos fenólicos de una muestra comercial de piezas aéreas de *E. Purpurea* y su actividad antimicrobiana y proliferativa, realizada por Joana Coelho et al. En el 2020, análisis que fueron realizados por HPLC-DAD-ESI/MS y los extractos más activos en términos de efectos citotóxicos se fraccionaron por elución gradiente mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice y las fracciones resultantes fueron evaluadas para su potencial antiproliferativo, los estudios indican que *Echinacea purpurea* tiene un considerable potencial

terapéutico debido a sus efectos citotóxicos, inmunomoduladores y sinérgicos. De la evaluación se concluye que la *Equinacea purpurea* tiene acción en la inhibición del crecimiento de células cancerosas y la modulación del sistema inmunológico, en la que presenta oportunidades para el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos. (Coelho et al., 2020, 125)

En la selección de Equinácea para pruebas de seguridad utilizando modelos de roedores, realizada por Suramya Waidyanatha y compañía en el 2020, por medio de análisis químicos no dirigidos combinados con análisis quimiométricos, seleccionó un producto potencial inacabado de *Equinacea purpurea*, siendo autenticado usando técnicas químicas y de ADN y caracterizado, incluyendo la composición fitoquímica, se lograron identificar numerosos componentes como ácido cafártico, ácido chicórico, ácido clorogénico y dodeca-2(E,4(E,8(Z),10(E/Z)-isácido isobutilamida del ácido teatral, que constituyeron una pequeña fracción del extracto. Se logró concluir que, a partir de estos análisis, se propone un enfoque para la selección de artículos de prueba para la investigación de Equinácea que se puede adaptar a otros botánicos. (Waidyanatha et al., 2020)

En la evaluación de los metabolitos de la *Echinacea purpurea*, en el año 2022 el equipo de Cristina Burlou-Nagy y compañía, evaluaron la síntesis de los compuestos bioactivos, composición química y propiedades farmacológicas de la *E. purpurea* (subespecie L), implicó una búsqueda de literatura y se incluyó una selección de evidencia científica publicada, en donde se reveló que la planta tiene la presencia de compuestos activos. Estos compuestos activos presentan propiedades farmacológicas importantes que incluyen antioxidantes, inmunomoduladores, antiinflamatorios, antibacterianos, antivirales y antiosteoporóticos; en el estudio se comprobó que las propiedades variaron según su fuente de origen. Del estudio se concluye que la *Echinacea purpurea L* es una fuente importante de productos bioactivos, los cuales pueden ser de alta importancia para el desarrollo de productos farmacéuticos. (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244)

La investigación sobre la bioactividad de los extractos de *Equinacea purpúrea* para modular la producción de mediadores inflamatorios, realizado por Sara F Vieira y compañía en el 2022, los resultado se obtuvieron mediante extractos de disolvente acelerado y se prepararon con

revuelo, su huella química fue evaluada por cromatografía líquida espectrometral masa de alta resolución (LC-HRMS), se demostró que los extractos de *Echinacea purpurea* modulan el comportamiento de los macrófagos y actúan como pro y antiinflamatorios/oxidantes, los extractos tuvieron una actividad antiinflamatoria más fuerte que los AINEs y corticosteroides convencionales, sugiriendo su potencial para tratar enfermedades autoinmunes, inmunodeficiencias y cáncer. De la investigación se concluye que los extractos de *Echinacea purpurea* muestran un gran potencial terapéutico al modular eficazmente la respuesta inflamatoria y fortalecer el sistema inmunológico, sugiriendo que podrían ser utilizados en el desarrollo de nuevos tratamientos. (Vieira et al., 2022, 13616)

Oliveira, B. G. de, et al. (2022) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos secos de *EP* mediante el método de microdilución, además emplearon un modelo de fagocitosis para determinar el potencial inmunomodulador y el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, mediante la realización de pruebas in vitro. El ensayo antimicrobiano indicó que los extractos no pudieron inhibir el crecimiento de ninguna cepa de bacterias probada, aunque se observó una ligera actividad antifúngica. Para la determinación inmunomoduladora la dosis más alta probada condujo a un aumento de la fagocitosis, en cuanto al ensayo de producción de ROS los extractos secos de *EP* estimulan la producción de forma dependiente. Se concluyó que una posible forma por la cual *Echinacea purpurea* sea efectiva para el control de infecciones es un mecanismo indirecto (Oliveira et al., 2022)

1.5.3 Nacionales

Javier Quesada y Renato Murillo, en el 2019, realizaron una investigación sobre el control de calidad de fitofármacos en cuando a su contenido de principios activos, se llevó a con la utilización de Resonancia Magnética Nuclear y la aplicación del análisis de componentes principales. Se encontró una diferencia entre productos locales con el producto de referencia, esta variación puede deberse a la utilización de diferentes especies de *Echinacea*, como *E. purpurea*, *E. pallida* y *E. angustifolia*. El producto de USA contiene 80% de *E. purpurea* y 20% de *E. angustifolia*, pero de igual forma es fundamental la presencia de los principios activos

responsables de la actividad inmunoestimulante. Se concluyó que el control de calidad de productos naturales medicinales en países en desarrollo es crucial debido a su alto consumo, el estudio de componentes principales mostró que muchos productos locales carecen de los principios activos esperados, indicando un control deficiente por parte de las autoridades de Costa Rica, no son lo suficientemente rigurosas para este tipo de productos. (Quesada Espinoza & Murillo Masís, 2019, 81-94)

Carlos O. Morales, en el 2020, registró el mayor número posible de plantas seminíferas alóctonas de Costa Rica, establecer su origen y aportar datos sobre historia natural y usos en este país, este estudio es descriptivo y cualitativo, debido a la escasez de información que pudiera permitir una valoración cuantitativa de los fenómenos de introducción, naturalización e invasión de especies vegetales, este estudio documenta 144 familias, 623 géneros y aproximadamente 982 especies introducidas en Costa Rica, representando más del 90% de la flora alóctona del país. Se concluyó que seis de las familias más diversas de la flora nativa de Costa Rica, incluyendo Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Orchidaceae, Poaceae y Rubiaceae, también tienen muchas especies alóctonas. Sin embargo, Orchidaceae, siendo la más diversa entre las nativas, ocupa el puesto 27 entre las alóctonas, en parte debido a la dificultad de cuantificar híbridos. (Morales, 2020).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. *Echinacea Purpurea*: Generalidades

2.1.1. Taxonomía de la *Echinacea purpurea*.

El nombre científico es *Echinacea purpurea* (L.) Moench., la palabra equinácea proviene de la palabra griega echinos, que significa erizo de mar o erizo, pertenece a la familia de las Asteráceas. La *Echinacea purpurea* (L.) Moench es una planta perenne, robusta de 100 a 150 cm de altura, vigorosa y herbácea, las raíces son cilíndricas de color marrón en el exterior y blanco en el interior, tiene un tallo recto, robusto que se ramifica de 60 a 180 cm de altura, tiene pelos ásperos y parches marrón rojizo. Las hojas son lineales y lanceoladas con tres costillas arqueadas y pelos ásperos son enteras, de 3 x 6 cm de ancho, esta planta produce una roseta de hojas durante el primer año de cultivo y florece solo en el segundo año (Mistríková & Vaverková, 2007, 2-5).

Las flores se agrupan en inflorescencias terminales de color rosa, rojo pálido o rojo profundo. En la base de la inflorescencia, hay brácteas afiladas que, al madurar, lignifican y adquieren un aspecto espigado. La inflorescencia está compuesta por aproximadamente 20 flores liguladas radicales de color púrpura, que inicialmente permanecen verticales y luego se disponen horizontalmente. Estas flores estériles tienen lígulas de 5-7 cm de largo y 0,5 cm de ancho, situadas en el borde de la inflorescencia. En el centro, se encuentran numerosas flores tubulares bisexuales de color marrón anaranjado, que le dan a la inflorescencia una apariencia de sombrero o erizo, con aproximadamente 3 cm de altura y 3-5 cm de ancho. Los frutos son aquenios de color gris blanquecino, con cuatro bordes y dientes en la parte superior (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

2.1.2. Historia y uso tradicional.

Las especies del género *Echinacea* ocupan un lugar importante entre las plantas medicinales, pertenecen a la familia Asteraceae, que se conoce comúnmente como Echinós, púrpura flor de cono y también nombradas hierbas perennes, cabeza de indio, flor de peine, es una de las más plantas herbarias populares cultivadas en América del Norte (Kumar & Ramaiah, 2011, 304-314).

La equinácea se presenta en nueve especies distintas, pero solo tres se utilizan como hierbas medicinales con amplios usos terapéuticos: *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt. y *Echinacea angustifolia*. Una gran cantidad de especies de la familia Asteraceae se han utilizado con fines terapéuticos en comparación con otras familias de plantas debido a la disponibilidad de sustancias químicas con un amplio espectro de propiedades terapéuticas, así como al hecho de que la familia de plantas Asteraceae es una de las más destacadas y conocidas. (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244)

La *Echinacea purpurea* ha sido utilizada con fines medicinales desde tiempos ancestrales por los nativos norteamericanos. Existen registros que indican que su uso se remonta al año 1600, cuando diversas tribus la empleaban para tratar una variedad de problemas médicos, como dolor de encías, tos, problemas intestinales y mordeduras de serpiente. Su aplicación se extendió por múltiples regiones y culturas indígenas, cada una con usos específicos de la planta. (Kumar & Ramaiah, 2011, 304-314).

Los pueblos nativos de Nebraska y Misuri empleaban las raíces de *Echinacea* para curar heridas purulentas y como antídoto ante mordeduras de serpiente. Los crow de Montana y Wyoming masticaban la raíz fresca para aliviar el dolor de muelas y recomendaban su jugo para tratar cólicos y resfriados. Existen registros antropológicos que indican que los sioux ya la utilizaban en el siglo XVI para tratar infecciones, mordeduras de serpientes y posiblemente la rabia. (Berdonces, 2015)

Los choctaws, en las regiones de Misuri y Alabama, usaban la planta para aliviar la tos persistente y tratar problemas digestivos asociados. En Texas, los comanches aplicaban la raíz de *Echinacea* para calmar el dolor de muelas y la inflamación de garganta. De manera similar, los meskwakis de Wisconsin rallaban la raíz de la planta y la administraban en casos de cólicos y problemas estomacales. (Berdonces, 2015)

En el sudoeste de Kansas, los kiowa masticaban la raíz y la tragaban lentamente para potenciar su efecto en el tratamiento de la faringitis y la tos. Los cheyenes, asentados en el oeste de Kansas y Colorado, preparaban infusiones con hojas y raíces para aliviar afecciones bucales y gingivales, reumatismo, sarampión, artritis y paperas, también aplicaban el jugo de la raíz

directamente sobre los dientes cariados y heridas abiertas para prevenir infecciones. (Berdonces, 2015)

A pesar de la diversidad de sus aplicaciones, la *Echinacea* era especialmente apreciada por sus propiedades para tratar infecciones, inflamaciones y enfermedades respiratorias, su importancia no solo radicaba en sus beneficios terapéuticos, sino también en su valor espiritual. En la cultura cheyenne, por ejemplo, formaba parte de ceremonias como la Danza del Sol, donde era consumida tras periodos de ayuno (Berdonces, 2015).

El tratamiento y la comercialización de la *Echinacea* no se produjeron hasta el siglo XIX, durante este periodo, el extracto de la raíz comenzó a ser utilizado como purificador de la sangre y fue comercializado como un potente agente antiinfeccioso, la popularidad creció a principios del siglo XX, especialmente entre 1916 y 1950, cuando su uso se consolidó en la medicina herbaria de Estados Unidos y Europa (Kumar & Ramaiah, 2011, 304-314).

Con la llegada de los colonos europeos al centro de Norteamérica, estos comenzaron a adoptar remedios autóctonos debido a la falta de acceso a los medicamentos convencionales, la *Echinacea* fue una de las plantas que más interés despertó, especialmente por la confianza que los nativos depositaban en ella para tratar diversas dolencias (Berdonces, 2015).

A finales del siglo XIX, la planta fue introducida en la farmacopea occidental por farmacéuticos y médicos estadounidenses. John King y los hermanos Curtis y John Uri Lloyd, destacados farmacéuticos de Cincinnati, jugaron un papel clave en su reconocimiento. En 1887, H.F.C. Meyer, un curandero de Nebraska, les presentó un producto denominado el “purificador de la sangre del Dr. Meyer”, basado en *Echinacea*. Aunque en un principio la comunidad médica recibió la planta con escepticismo, King inició experimentos y descubrió su eficacia en infecciones, catarros, úlceras, hemorroides y reumatismo, entre otras afecciones. (Berdonces, 2015)

La popularidad de la *Echinacea* creció rápidamente, consolidándose en la medicina herbaria de Estados Unidos. En 1895, comenzó su expansión hacia Europa, donde su demanda aumentó considerablemente. Durante la década de 1920, el fitoterapeuta alemán Gerhard Madaus impulsó su producción en el continente europeo con el producto Echinacin, un extracto de

Echinacea purpurea. En 1937, la demanda de *Echinacea* en Francia fue tan elevada que agotó las reservas estadounidenses, lo que llevó a la implementación de cultivos en Europa para garantizar su disponibilidad (Berdonces, 2015).

En términos botánicos, McGregor en 1968 y Binns, en 2002, presentaron una clasificación morfológica detallada de la *Echinacea*, desarrollando un método numérico y estadístico para su categorización. Según sus estudios, existen 11 taxones, 2 subgéneros y 4 especies con dos variedades botánicas conocidas. Ambos investigadores confirmaron que la planta es una medicina herbaria utilizada históricamente por los nativos americanos para mejorar el sistema inmunológico (Kumar & Ramaiah, 2011, 304-314).

El producto a base de hierbas, derivado principalmente de las raíces, se convirtió en una de las especies más cultivadas en EE.UU. Debido al aumento de la demanda del mercado, su valor económico y sus beneficios potenciales para la salud humana, la *Echinacea purpurea* (L.) Moench ha sido ampliamente cultivada en Europa y América del Norte, consolidándose como una de las hierbas medicinales más populares (Kumar & Ramaiah, 2011, 304-314).

2.1.3. Composición Fitoquímica.

La *Echinacea purpurea* contiene diversos metabolitos bioactivos que contribuyen a sus propiedades farmacológicas, los principales compuestos químicos incluyen alcaloides, flavonoides, polisacáridos, glicoproteínas, ácidos fenólicos y terpenoides.

Los compuestos derivados del ácido cafeico son importantes componentes de *Echinacea purpurea*, especialmente en las raíces y el pecíolo, incluyen ácido cafeico, ácido chicórico, ácido caftárico, ácido clorogénico y echinacósido, estos compuestos pueden encontrarse en forma libre o conjugada con azúcares en forma de glucósidos. El ácido cafeico y el ácido chicórico se encuentran mayormente en forma libre, mientras que el ácido caftárico y el ácido clorogénico son glucósidos del ácido cafeico. El echinacósido, es un glucósido complejo de ácido cafeico y un disacárido, el ácido chicórico es el más abundante en las flores y hojas, mientras que el echinacósido es prominente en las flores.

Los alcaloides presentes en *Echinacea purpurea* incluyen tussilagina e isotussilagina, que son de tipo pirrolizidínico, estos compuestos están presentes en mayor concentración en la raíz que en las partes aéreas de la planta (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

Los polisacáridos de *Echinacea purpurea* están representados por pectinas, arabinogalactanos e insulina, estos carbohidratos complejos están implicados en la modulación del sistema inmunológico y se encuentran principalmente en las raíces.

Las glicoproteínas están formadas por proteínas unidas a cadenas de carbohidratos y desempeñan un papel clave en la respuesta inmunológica, estos compuestos se localizan principalmente en las raíces de la planta (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

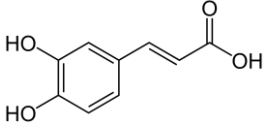
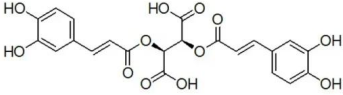
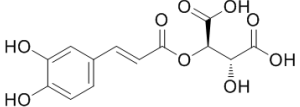
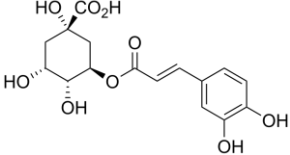
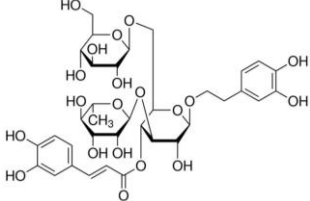
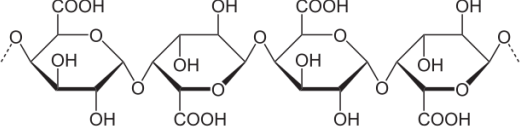
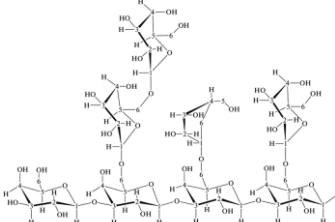
Los flavonoides identificados en *Echinacea purpurea* incluyen quercetina, kaempferol y luteolina, poseen actividad antioxidante y antiinflamatoria, se encuentran en mayor concentración en las partes aéreas de la planta. Muchos flavonoides pueden encontrarse en forma de glucósidos, donde una molécula de azúcar está unida a la estructura flavonoide, lo cual influye en su solubilidad y biodisponibilidad (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

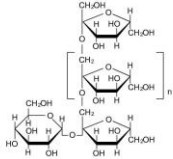
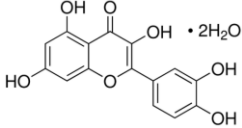
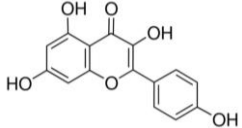
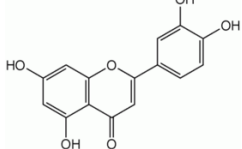
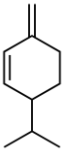
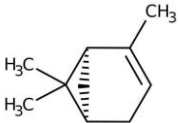
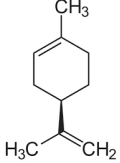
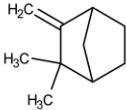
Los principales terpenoides identificados en *Echinacea purpurea* son β -phellandreno, α -pineno, limoneno, camfeno, ocimeno y terpineno, están presentes en todas las partes de la planta, con mayor concentración en las hojas y tallos (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

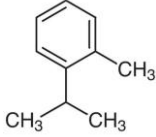
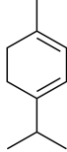
Entre los aldehídos y otros compuestos volátiles encontrados en *Echinacea purpurea* se incluyen acetaldehído, dimetil sulfuro y hexanal, estos compuestos influyen en el aroma de la planta y pueden desempeñar un papel en la defensa contra patógenos.

En extractos de *Echinacea purpurea*, se han identificado ácidos grasos como el ácido linoleico (9,12-octadecadienoico), ácido palmítico (hexadecanoico) y ácido esteárico (octadecanoico). Además, se han detectado esteroides, que contribuyen a la estructura y funcionalidad de las membranas celulares vegetales (Burlou-Nagy et al., 2022, 1244).

Tabla 1. Composición fitoquímica

Metabolitos	Estructuras Químicas
Derivados del ácido cafeico	
Ácido cafeico	
Ácido chicórico	
Ácido caftarico	
Ácido clorogénico	
Echinacósido	
Polisacáridos	
Pectinas	
Arabinogalactanos	

<p style="text-align: center;">Insulina</p>	
<p>Flavonoides</p>	
<p style="text-align: center;">Quercetina</p>	
<p style="text-align: center;">Kaempferol</p>	
<p style="text-align: center;">Luteolina</p>	
<p>Terpenos</p>	
<p style="text-align: center;">β-phellandreno</p>	
<p style="text-align: center;">α-pineno</p>	
<p style="text-align: center;">Limoneno</p>	
<p style="text-align: center;">Camfeno</p>	

Ocimeno	
Terpineno	

Fuente: Elaboración propia basada en los datos encontrados

2.1.4. Propiedades farmacológicas.

2.1.4.1. Propiedades inmunomoduladoras.

Las propiedades inmunomoduladoras de *Echinacea purpurea* han sido ampliamente estudiadas, destacando su capacidad para modular la respuesta inmune a través de diversos mecanismos bioquímicos y celulares, entre sus principales acciones se encuentran la inhibición de la enzima hialuronidasa, es una enzima involucrada en la degradación del ácido hialurónico, lo que favorece la diseminación de infecciones. Los polisacáridos, químicamente los carbohidratos más complejos y alquilamidas son un grupo de compuestos naturales bioactivos que muestran una amplia variabilidad estructural y una importante gama de actividades biológicas, presentes en *E. purpurea* inhiben esta enzima, lo que permite preservar la integridad del tejido conectivo y reducir la propagación de patógenos (Vieira et al., 2022, 13616)

Diferentes extractos de *E. purpurea*, incluyendo el jugo de sus partes aéreas y extractos acuosos y alcohólicos de la raíz, han demostrado efectos antivirales contra virus como el de la gripe, el herpes y la estomatitis vesicular. Además del bloqueo de los receptores virales en la superficie celular, la acción antiviral de la equinácea puede ser una consecuencia de la inhibición de la hialuronidasa indirectamente, ya que la adición de hialuronidasa a los cultivos celulares reduce significativamente el efecto de la equinácea. Por otro lado, algunos virus secretan la

enzima hialuronidasa, que aumenta la permeabilidad del tejido conectivo y permite que el organismo sea más invasivo. La acción antiviral indirecta de la equinácea es, muy probablemente, más interesante que la directa e implica la liberación de interferón que estimula, entre otras cosas, la síntesis de proteínas intracelulares que bloquean la transcripción de ARN viral. (Capasso et al., 2011)

Un conjunto de investigaciones sugiere que el extracto de raíz de *E. purpurea* tiene propiedades que contribuyen a fortalecer el sistema inmunológico al disminuir la frecuencia y función de las células T reguladoras. Por otro lado, la administración oral de un extracto de *E. purpurea* incrementó la actividad de las células asesinas naturales en ratones al aumentar los niveles de MHC II, células T CD4 y citocinas Th1. También, se reportó que el extracto etanólico de las partes aéreas modula la respuesta de las citoquinas en las células T humanas (Dosoky et al., 2023).

La inflamación es un mecanismo de defensa esencial, pero su desregulación puede conducir a enfermedades autoinmunes y crónicas, se ha encontrado que los extractos de *E. purpurea* pueden reducir la producción de citocinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-1 β e IL-6, así como la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS). Esta actividad se debe a la presencia de metabolitos secundarios como los derivados del ácido cafeico, alquilamidas y polisacáridos (Vieira et al., 2022, 13616)

El aceite esencial de *E. purpurea* podría tener propiedades inmunomoduladoras innatas para probarlo se utilizaron neutrófilos humanos para evaluar los efectos de la *E. purpurea* y sus principales componentes. Los neutrófilos son células inmunes que sirven como factores y reguladores en el desarrollo de la respuesta inflamatoria innata. El tratamiento de neutrófilos humanos con *E. purpurea* inducido movilización intracelular de Ca²⁺, es un hallazgo importante, pues este juega un papel importante en la activación y función de los neutrófilos, los componentes del aceite esencial de *E. purpurea* (+)- δ -cadineno y α -felandreno también indujeron cambios comparables en las concentraciones intracelulares de Ca²⁺ en los neutrófilos (Dosoky et al., 2023).

La eficacia de los extractos de *E. purpurea* depende en gran medida de los métodos de extracción utilizados, técnicas convencionales como la maceración y la infusión pueden afectar

la estabilidad de los compuestos bioactivos, métodos avanzados como la extracción acelerada con solventes (ASE) han permitido mejorar la recuperación de metabolitos sin comprometer su bioactividad. En particular, los extractos etanólicos y diclorometánicos de flores, hojas y raíces han mostrado actividad inmunoestimulante o inmunosupresora dependiendo de su composición química (Vieira et al., 2022, 13616)

2.1.4.2. Propiedades antimicrobianas

Las propiedades antimicrobianas de *Echinacea purpurea* han sido ampliamente estudiadas debido a su potencial uso en el tratamiento de infecciones, la susceptibilidad de los microorganismos a los extractos secos de esta planta se ha evaluado mediante el método de microdilución en caldo, siguiendo los estándares del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). En estos estudios, se ha observado actividad antibacteriana contra bacterias Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*, así como contra bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Se ha evaluado la actividad antifúngica contra especies como *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum gypseum* (Oliveira et al., 2022).

Los estudios han demostrado que *Echinacea purpurea* podría reducir la proliferación de bacterias asociadas a infecciones respiratorias, como *Streptococcus pyogenes*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenzae* y *Clostridium difficile*. Asimismo, su actividad antifúngica se ha reportado contra *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se ha propuesto que el efecto antimicrobiano de los extractos de *Echinacea* podría estar relacionado tanto con su acción directa sobre los microorganismos como con su capacidad para modular la respuesta inmunitaria del huésped (Oliveira et al., 2022).

Entre los principales metabolitos responsables de la actividad antimicrobiana se encuentran los derivados del ácido cafeico, como el ácido clorogénico, el ácido caftárico y el ácido chicórico. Estos compuestos han demostrado poseer propiedades antimicrobianas y

antioxidantes, en particular, el ácido clorogénico ha mostrado actividad antifúngica significativa, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 512 $\mu\text{g/mL}$ para varias cepas de hongos y de 256 $\mu\text{g/mL}$ para *Cryptococcus gattii*. Además, se ha documentado que este compuesto puede inhibir la formación de biopelículas por *Aspergillus fumigatus*, lo que podría contribuir a su acción antifúngica (Oliveira et al., 2022).

Los extractos de *Echinacea purpurea* han mostrado valores de concentración mínima inhibitoria de 93.8 mg/mL contra *Streptococcus mutans* y 375 mg/mL contra *Escherichia coli*. Se ha propuesto que gran parte de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Echinacea purpurea* se debe a su contenido de germacreno D, que representa aproximadamente un 42 % de su composición, el aceite esencial de esta planta ha demostrado capacidad para inhibir el crecimiento de diversas especies bacterianas, aunque su efectividad contra *Staphylococcus aureus* ha sido limitada y ha mostrado menor actividad frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis* (Dosoky et al., 2023).

Los principales constituyentes que probablemente contribuyen a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Echinacea purpurea* son el β -cariofileno y el α -pineno, ambos con propiedades antimicrobianas comprobadas in vitro. Otros compuestos presentes en el aceite esencial, como el α -felandreno, el β -pineno, el α -curcumeno y el δ -cadineno, podrían generar efectos antimicrobianos aditivos o sinérgicos, lo que refuerza el potencial terapéutico de la planta. La presencia de estos metabolitos bioactivos sugiere que el aceite esencial de *Echinacea purpurea* podría ser una alternativa natural en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas (Dosoky et al., 2023).

Otros compuestos bioactivos presentes en *Echinacea purpurea* son las alcamidas son un grupo de compuestos naturales bioactivos que muestran una amplia variabilidad estructural y una importante gama de actividades biológicas y los polisacáridos químicamente los carbohidratos más complejos, se ha determinado que estos metabolitos pueden desempeñar un papel crucial en la modulación de la respuesta inmunitaria, se ha observado que los extractos secos de *Echinacea* pueden estimular la fagocitosis por parte de los macrófagos y aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual contribuye a la eliminación de microorganismos patógenos, esta actividad ha sido relacionada con la presencia de altas concentraciones de ácido

caftárico, ácido chicórico y otros derivados del ácido cafeico en los extractos. (Oliveira et al., 2022)

Si bien las propiedades antimicrobianas de *Echinacea purpurea* han sido bien documentadas, algunos estudios han reportado que los extractos secos comerciales no siempre presentan una actividad consistente, esto podría deberse a variaciones en la composición química de la planta, los métodos de extracción empleados o la estabilidad de los compuestos bioactivos durante el almacenamiento, la caracterización química de los extractos es fundamental para garantizar su eficacia (Oliveira et al., 2022).

2.2. Patología implicada

2.2.1. Traqueobronquitis Infecciosa en Perros.

La traqueobronquitis es una inflamación repentina o de larga duración de la tráquea y las vías aéreas superiores, también puede extenderse a los pulmones, es una enfermedad leve y autolimitante, pero puede evolucionar hacia una bronconeumonía mortal en los cachorros o hacia una bronquitis crónica en perros debilitados, enfermos o de edad avanzada. La enfermedad se disemina rápidamente entre los perros sensibles alojados en espacios cerrados, como hospitales veterinarios o perreras.

Esta enfermedad suele ser consecuencia de una infección vírica del aparato respiratorio, varios organismos víricos y bacterianos pueden causar tos de las perreras, es común tener infecciones con más de uno de estos microorganismos al mismo tiempo, otra de las causas de traqueobronquitis en perros incluyen parásitos, enfermedades de la boca y faringe, tos crónica relacionada con enfermedades cardíacas o pulmonares, inhalación de humo, exposición a humos químicos, estrés cambios ambientales, como la ventilación, la temperatura y la humedad extremas, parecen aumentar la sensibilidad del perro a la enfermedad, así como su gravedad. (Ned F., 2018)

2.2.2. Etiología y agentes causales (principales microorganismos)

La tos de las perreras tiene múltiples etiologías, que incluyen *Bordetella bronchiseptica*, el virus de la parainfluenza canina (VPIC), el adenovirus canino 2 (ACV-2), la influenza canina y, con menor frecuencia, el virus del moquillo canino. Los reovirus caninos (tipos 1, 2 y 3), el herpesvirus canino y el adenovirus canino 1 (AVC-1) son de importancia cuestionable en este síndrome. *Bordetella bronchiseptica* puede actuar como patógeno primario, especialmente en perros <6 meses; sin embargo, esta y otras bacterias (por lo general gramnegativas, como *Pseudomonas* spp, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) pueden causar infecciones secundarias después de una lesión viral de las vías respiratorias. Las coinfecciones por *B bronchiseptica*, el VPIC y el ACV-2 son las más frecuentes. El papel que desempeña *Mycoplasma* sp no se ha establecido firmemente. La posibilidad de contraer la enfermedad y la gravedad de esta aparentemente aumentan con el estrés y con los factores ambientales extremos de ventilación, temperatura y humedad (Ned F., 2018).

2.2.3. Síntomas clínicos.

Independientemente de su etiología, el cuadro clínico es muy similar y se puede dividir en dos grupos en función de la gravedad de la sintomatología (Fidalgo Álvarez, 2003, 471-472)

Ante la traqueobronquitis de forma leve, es la más común, se caracteriza por la presencia de tos seca y sonora que puede estimularse fácilmente por la palpación traqueal o al tirar del collar, en algunas ocasiones se logra observar una secreción nasal serosa leve (Fidalgo Álvarez, 2003, 471-472)

De forma grave, aparte de los signos respiratorios, aparecen manifestaciones sistémicas evidentes como fiebre, anorexia, letargo. Los animales afectados presentan secreción nasconjuntival mucopurulenta, tos seca y paroxística, disnea inspiratoria, intolerancia al ejercicio y reflejo traqueal positivo, al realizar la auscultación se aprecia estridor traqueal, aumento del sonido broncovesicular y crepitaciones. (Fidalgo Álvarez, 2003, 471-472)

2.2.4. Diagnóstico

La traqueobronquitis en su forma leve, se basa considerablemente en la anamnesis, cuadro clínico y exploración, también se realizan pruebas complementarias son innecesarias y suelen aportar datos inespecíficos.

En la forma grave y en animales que no responden al tratamiento, se indica la realización de diversas pruebas diagnósticas

Hemogramas, se observa leucopenia con linfopenia en los casos víricos, mientras que en las traqueobronquitis de etiología bacteriana la tasa de leucocitos puede encontrarse dentro del rango normal o incrementada y acompañada siempre de neutrofilia.

En las radiologías, se presenta un patrón intersticial leve a un patrón alveolar en función de la gravedad del cuadro clínico.

Los lavados traqueales, se practican con el fin de identificar los agentes implicados y realizar el antibiograma correspondiente contra el agente causal, en el caso de las bacterias (Fidalgo Álvarez, 2003, 471-472)

2.2.5. Tratamientos actuales y convencionales

Se recomienda el uso de muchos antibióticos para el tratamiento de la TIC, se utiliza la Amoxicilina/Clavulánico, Enrofloxacin, Trimetoprim-Sulfa y Tetraciclinas, se considera que la mejor elección es la Doxiciclina, se administra 5 mg/kg de peso cada 12 horas, las tetraciclinas por su mecanismo de acción, puede decolorar el esmalte dentario en el animal joven (<2 meses), para que esto no suceda el tratamiento no debe prolongarse más de 7 días.

El uso de Oxitetraciclina es una opción mucho más económica, su vía de administración es inyectable y presenta una dosis de 22 mg/kg cada 8-12 horas

La Azitromicina es el antibiótico que presenta una mejor eficacia, disponibilidad y persistencia, tiene una dosis de 10 mg/kg de peso/día durante 7 días. Junto con Codeína en dosis antitusiva y el reposo moderado, es el tratamiento de elección, para el paciente ambulatorio.

En pacientes deprimidos y anoréxicos, la rehidratación ayudará a fluidificar las secreciones y mejorar la ventilación, para paciente individual, se recomienda mantenerlo aislado dentro del hogar por lo menos hasta 7 días luego de que haya pasado la tos, con el fin de evitar la diseminación de la TIC.

Algunos profesionales le administran polvo de Echinacea al alimento una vez por día, a razón de 1 g cada 10 kg de peso, es bien tolerado y efectivo, para tratar las infecciones del tracto superior respiratorio canino. (Mauro, 2006, 1-9)

2.3. Aplicación de la *Echinacea purpurea* como profiláctico

2.3.1. Posible mecanismo de acción como coadyuvante en la tos de las perreras.

Su mecanismo de acción se basa en la activación de células inmunitarias clave, la modulación de la respuesta inflamatoria y la regulación de la migración celular.

Uno de los efectos más estudiados de *E. purpurea* es su capacidad para fortalecer el sistema inmunológico, sus extractos pueden potenciar la actividad de ciertas células inmunitarias, como los linfocitos T, lo cual podría ayudar al organismo del perro a combatir la infección de manera más efectiva, también su acción sobre las citocinas inflamatorias sugiere que podría contribuir a regular la respuesta inmune, evitando una inflamación excesiva que agrave los síntomas.

Los compuestos bioactivos que están presentes en los aceites esenciales de *E. purpurea* se relaciona mucho con la modulación de la inflamación, han demostrado ser capaces de regular la actividad de los neutrófilos, las células encargadas de la primera línea de defensa en el sistema inmune, al controlar la migración de estas células y su activación excesiva, la *Echinacea* podría reducir la inflamación en las vías respiratorias y disminuir la irritación que provoca la tos persistente. (Dosoky et al., 2023)

La *E. purpurea* posee propiedades antimicrobianas que son beneficiosas en la tos de las perreras, los compuestos del aceite esencial pueden inhibir el crecimiento de bacterias

patógenas, esto sugiere que podría ayudar a limitar la proliferación de *Bordetella bronchiseptica* o, al menos, prevenir infecciones secundarias que puedan complicar el cuadro clínico.

2.4. Métodos de extracción y cuantificación de los metabolitos de la *Echinacea purpurea*

2.4.1. Método de extracción Soxhlet

El método Soxhlet es una técnica de extracción sólido-líquido utilizada para obtener compuestos solubles de una matriz sólida mediante la recirculación de un disolvente. Fue desarrollado en 1879 por el químico alemán Franz Ritter Von Soxhlet, inicialmente con el propósito de cuantificar el contenido de grasa en alimentos. Sin embargo, su aplicación se ha expandido a diversas áreas, incluyendo la extracción de metabolitos bioactivos en productos naturales, como en el caso de *Echinacea purpurea*. (Campos Mondragón, 2019, 450)

La extracción Soxhlet se basa en la solubilidad diferencial de los compuestos de interés en un disolvente adecuado. En este proceso, el disolvente se calienta hasta alcanzar su punto de ebullición y se evapora, condensándose posteriormente en un refrigerante. Luego, el disolvente líquido cae sobre la muestra contenida en un cartucho de celulosa dentro de la cámara de extracción, permitiendo la disolución selectiva de los compuestos solubles. El disolvente con el extracto disuelto se acumula hasta alcanzar un nivel crítico, momento en el que se vacía de regreso al matraz mediante un sifón, repitiendo el proceso de forma continua hasta lograr una extracción completa. (Campos Mondragón, 2019, 450)

El equipo de Soxhlet consta de varias partes esenciales:

1. Fuente de calor que va a permitir la evaporación del disolvente.
2. Matraz de extracción que contiene el disolvente y recibe el extracto recuperado.
3. Cámara de extracción (Soxhlet), contiene la muestra dentro de un dedal de celulosa.
4. Sifón, permite la recirculación del disolvente una vez que se alcanza un nivel determinado.

5. Refrigerante, va a condensar el disolvente evaporado para que regrese a la muestra en forma líquida. (Campos Mondragón, 2019, 450)

2.4.1.2 Identificación de metabolitos mediante espectroscopia FT-IR y espectroscopia Masas

La espectroscopia FT-IR funciona aplicando energía a un haz de luz infrarroja emitido por una fuente. Este haz atraviesa una cámara diseñada para regular la cantidad de energía que llegará a la muestra. En el interferómetro espectral, la luz infrarroja se codifica, generando un interferograma que procesa la señal. Luego, el haz ingresa al compartimento de la muestra, donde puede ser absorbido, transmitido o reflejado, dependiendo del tipo de análisis requerido. Finalmente, la luz llega al detector, donde se mide y digitaliza la señal antes de enviarla al sistema, donde se aplica la transformación de Fourier para interpretar los datos (Marenco et al., 2012).

Una de las grandes ventajas de la espectroscopia FT-IR es su capacidad para generar una "huella dactilar" única de las sustancias analizadas, lo que permite identificar con precisión cepas microbianas desconocidas a partir de bibliotecas de datos espectrales. Gracias a su capacidad para diferenciar microorganismos basándose en patrones espectrales característicos, esta técnica se destaca como una herramienta insustituible en el análisis microbiológico (Marenco et al., 2012).

Existen dos tipos principales de equipos utilizados en técnicas espectroscópicas: los equipos dispersivos y los basados en la transformación de Fourier. Los equipos dispersivos operan irradiando la muestra de forma secuencial con diferentes frecuencias de luz infrarroja, permitiendo analizar su respuesta a cada una. Por otro lado, la técnica de reflexión total es especialmente útil para estudiar la adhesión de *Cryptosporidium parvum* a distintas superficies bajo diversas condiciones ambientales. La espectroscopia basada en la transformación de Fourier (FT-IR) funciona mediante determinaciones interferométricas, esto significa que la

muestra es irradiada simultáneamente con luz infrarroja policromática proveniente de una fuente única. Esta técnica es una herramienta sumamente poderosa para analizar microorganismos de manera precisa.

El uso de la espectroscopia infrarroja en el análisis de bacterias del ácido láctico se remonta a 1958. Desde entonces, múltiples investigaciones han explorado su potencial para la clasificación e identificación de patógenos transmitidos por los alimentos. Entre ellos se encuentran *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria spp.*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia spp.* Estos estudios han demostrado que la espectroscopia infrarroja es una herramienta eficaz para diferenciar microorganismos con gran precisión, contribuyendo a la seguridad alimentaria y al control de enfermedades infecciosas (Marenco et al., 2012).

Numerosos estudios han destacado la capacidad de la espectroscopia FT-IR para analizar cambios dinámicos en poblaciones bacterianas y diferenciar distintos fenotipos dentro de una misma cepa. Esta tecnología es particularmente valiosa para identificar fenotipos con relevancia en la seguridad alimentaria y la salud pública, como aquellos que muestran una alta resistencia a los tratamientos de procesamiento de alimentos y a condiciones ambientales adversas, resultado de mecanismos de adaptación bacteriana (Marenco et al., 2012).

Más allá de su aplicación en microbiología, la espectroscopia FT-IR ha demostrado ser una herramienta sensible en la identificación de células cancerosas, células madre, células infectadas por virus y otros microorganismos. Los cultivos celulares representan un modelo ideal para la investigación básica, pues permiten detectar cambios celulares asociados al desarrollo de infecciones virales. Esta técnica facilita la distinción entre las fases temprana y tardía de la infección, y su combinación con herramientas estadísticas avanzadas ofrece un método prometedor para analizar la progresión de virus como el herpes, entre otros. Además, su capacidad para obtener resultados con una mínima cantidad de muestra y en tiempos reducidos la convierte en una herramienta valiosa para el diagnóstico rápido y confiable de infecciones virales (Marenco et al., 2012).

A nivel global, las enfermedades infecciosas siguen siendo responsables de aproximadamente el 25% de las muertes anuales. En los últimos años, la espectroscopia

vibracional, en particular la técnica FT-IR, ha emergido como una herramienta poderosa para la caracterización microbiana, permitiendo diferenciar microorganismos a nivel de género, especie, e incluso entre cepas y serotipos. Su rapidez, bajo requerimiento de biomasa, facilidad de implementación y costo relativamente bajo la convierten en una alternativa eficiente para la reducción del uso de reactivos y la manipulación de muestras (Marengo et al., 2012).

Para realizar la caracterización y cuantificación de los aceites esenciales de *E. purpurea* se utiliza la cromatografía de gases-espectrómetro de masas. En un estudio se obtuvo como resultado utilizando una temperatura de la columna en 50 °C durante 2 min y luego se aumentó en 2 °C/min hasta la temperatura de 260 °C. El gas portador era helio con cabeza de columna. La presión de 552 kPa y un caudal constante de 1,37 ml/min. La temperatura del inyector se mantuvo a 260 °C y la temperatura de la fuente de iones fue de 200 °C. Para cada muestra de aceite esencial, se preparó una solución 1:10 v/v en diclorometano (DCM) y se inyectaron 0,3 µL utilizando una relación de división de 1:30. Los componentes del aceite esencial se identificaron comparando fragmentos espectrales de masas. Los patrones de mentalidad (más del 80% de coincidencia de similitud) e índices de retención basados en una serie de n-alcános C8-C20 homólogos con los informados en las bases de datos (Dosoky et al., 2023).

La espectrometría de masas es una técnica analítica que permite la identificación y cuantificación de compuestos químicos y se ha utilizado ampliamente en diferentes campos, como la microbiología, la proteómica, y la investigación de metabolitos. Fue concebida hace más de cien años, pero no fue hasta la invención de técnicas de ionización suave como MALDI (Matrix-assisted laser desorption/ionization) y ESI (Electrospray ionization) que la EM comenzó a aplicarse en análisis rutinarios. Estas técnicas permiten el análisis de proteínas de alto peso molecular y la identificación de componentes de mezclas complejas sin que estos sufran fragmentaciones, lo cual simplifica la interpretación de los espectros obtenidos (Jordana Llucha et al., 2012).

El principio fundamental de la espectrometría de masas radica en la generación, separación y detección de iones en fase gaseosa. El espectrómetro de masas consta de tres componentes principales: una fuente de ionización, un analizador de masas y un detector, estos elementos operan en condiciones de vacío, permitiendo la desorción y ionización de la muestra para generar iones cargados, que luego son analizados según su relación masa/carga (m/z). La

ionización puede ser realizada mediante diversas fuentes, como MALDI, donde la muestra se embebe en una matriz y se irradia con un láser para generar una nube de iones, o mediante ESI, en la que la muestra se disuelve en un solvente y se inyecta a través de un capilar para formar gotas cargadas que generan iones (Jordana Llucha et al., 2012).

El analizador de masas es el componente que separa los iones generados según su relación masa/carga. Uno de los analizadores más utilizados en espectrometría de masas es el TOF (Time-of-Flight), que utiliza el tiempo que tarda un ion en llegar al detector para determinar su masa. A medida que los iones viajan a través de un tubo de vuelo, se separan según su relación m/z , lo cual permite la obtención de un espectro de masas que muestra la intensidad de los iones en función de su masa (Jordana Llucha et al., 2012).

La espectrometría de masas se ha convertido en una herramienta fundamental para el análisis cualitativo y cuantitativo de extractos obtenidos de diversas fuentes. En el caso de los extractos biológicos, esta técnica permite la identificación de metabolitos activos, componentes químicos presentes en plantas, microorganismos, o tejidos biológicos. La capacidad de detectar una amplia gama de compuestos, desde pequeñas moléculas hasta macromoléculas como proteínas, permite la caracterización de los metabolitos presentes en un extracto, lo que es clave para estudios farmacológicos y de investigación en salud (Jordana Llucha et al., 2012).

La espectrometría de masas permite la identificación precisa de los metabolitos presentes en una muestra, al generar un espectro de masas, es posible comparar las masas obtenidas con bases de datos y espectros de referencia, lo que facilita la identificación de compuestos específicos, la capacidad de obtener información sobre la estructura molecular de los metabolitos permite conocer la naturaleza química de los componentes presentes en el extracto, lo cual es esencial para la identificación de compuestos bioactivos (Jordana Llucha et al., 2012).

La espectrometría de masas es una herramienta poderosa que permite medir la concentración de los metabolitos en los extractos, la intensidad de los picos en el espectro de masas es proporcional a la cantidad de iones presentes, lo que permite realizar cuantificaciones precisas de los compuestos presentes (Jordana Llucha et al., 2012).

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Enfoque

Se adopta un enfoque cuantitativo, fundamentado en la metodología de Sampieri, dado que busca medir y analizar, de manera objetiva, la eficacia de los extractos de *Echinacea purpurea* como coadyuvantes en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros.

Este enfoque se caracteriza por emplear herramientas de recolección de datos estructuradas para evaluar la actividad de los compuestos bioactivos de *Echinacea purpurea*. Donde se plantean hipótesis sobre la efectividad de los extractos en la inhibición de patógenos asociados a la traqueobronquitis infecciosa. Los datos obtenidos serán analizados con métodos estadísticos para validar la eficacia del extracto en función de variables predefinidas.

3.2 Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo aplicada, pues busca desarrollar una solución práctica para un problema específico en la medicina veterinaria: la prevención de la traqueobronquitis infecciosa en perros. Al diseñar una formulación a base de extractos de *Equinacea Purpurea* y evaluar su efectividad como coadyuvante en la profilaxis de esta enfermedad, se pretende generar un producto que pueda ser utilizado directamente en la práctica clínica veterinaria, mejorando la salud y el bienestar de los animales.

Para el diseño de esta investigación, se emplearán técnicas de recolección de datos utilizando análisis fitoquímicos de los extractos, ensayos de actividad antioxidante y antimicrobiana en laboratorio, además, pruebas de inhibición de agentes patógenos involucrados en la traqueobronquitis infecciosa. Dentro de la parte instrumental espectrofotometría para evaluar la concentración de compuestos bioactivos, cultivos microbiológicos para determinar la actividad antimicrobiana y el análisis estadísticos para evaluar la significancia de los resultados. Este enfoque permitirá obtener datos cuantificables y verificables, proporcionando evidencia científica sobre la efectividad de la formulación propuesta.

3.3 Fuentes de información

Con el propósito de obtener información relevante para el diseño de una formulación a base de extractos de *Equinacea Purpurea* y su aplicación como coadyuvante en la profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa en perros, se recurrirá a diversas fuentes de información. El objetivo es tener un análisis integral que permita resolver tanto los objetivos de la investigación como las variables planteadas.

Se utilizarán fuentes primarias obtenidas por medio de bases de datos de artículos científicos, libros de texto y documentos de interés, en su mayoría de manera virtual. Algunas de las bases de datos utilizadas serán Scielo, ScienceDirect, Google Scholar, Elsevier, PubMed, Redalyc. En estas bases de datos, la búsqueda se centrará en artículos científicos con un alto nivel de impacto. Las líneas principales de búsqueda incluirán temas como las propiedades inmunomoduladoras de la *Equinacea Purpurea*, su uso en medicina veterinaria y su efectividad en la prevención y tratamiento de enfermedades respiratorias en perros. Además, se buscará información sobre la traqueobronquitis infecciosa canina, sus causas, síntomas y tratamientos actuales.

También se revisarán libros de texto especializados en fitoterapia y medicina veterinaria para complementar la información obtenida de los artículos científicos. Estos textos proporcionarán un contexto más amplio y detallado sobre el uso de plantas medicinales y su aplicación en el tratamiento de enfermedades en animales. La combinación de estas fuentes permitirá obtener una visión completa y actualizada de los temas de interés, garantizando que la investigación esté basada en evidencia científica sólida y relevante.

3.4 Población y Muestra

Para el desarrollo de esta investigación, la población objetivo está conformada por caninos diagnosticados con Traqueobronquitis Infecciosa Canina (TIC), comúnmente conocida como "tos de las perreras", estos caninos pueden ser atendidos en clínicas veterinarias, refugios o centros de cuidado animal donde se haya confirmado la presencia de la enfermedad.

3.5 Criterios de búsqueda de información

Tabla 2. Criterios de búsqueda de información basados en los objetivos específicos de la investigación en curso

Objetivo específico	Descriptor	Motor de búsqueda	Resultados por descriptor	Periodo de estudio	Idioma
Indagar las causas de la patología de Traqueobronquitis Infecciosa Canina	Patología de la Traqueobronquitis Infecciosa Canina	Science Direct	10	2016-2025	Inglés Español
		Google Académico	15		
		Pubmed	20		
Infecciosa en caninos y los factores apremiantes de su transmisión, para determinar los mecanismos y patógenos responsables de la respuesta inmune del canino y el daño tisular que causa en el sistema respiratorio.	Mecanismos de transmisión y factores de riesgo de TIC	Scielo	2	2015-2024	Inglés Español
		Science Direct	12		
		Google Académico	8		
Respuesta inmune y daño tisular en infecciones respiratorias caninas	Respuesta inmune y daño tisular en infecciones respiratorias caninas	Google académico	12	2015-2023	Inglés Español
		PudMed central	10		
		MSD Veterinary	7		
Caracterizar el extracto de raíces y hojas de la Echinacea purpurea mediante análisis fitoquímicos para caracterizar los compuestos bioactivos (metabolitos) con potencial inmunoestimulante y antimicrobiano presentes en el extracto	Análisis fitoquímico de <i>Echinacea purpurea</i>	PudMed central	15	2015-2023	Inglés Español
		MDPI	5		
		Science Direct	10		
		Scielo	20		
Metabolitos bioactivos con actividad inmunoestimulante y antimicrobiana	Metabolitos bioactivos con actividad inmunoestimulante y antimicrobiana	Science Direct	9	2015-2023	Inglés Español
		Scielo	10		
		Google académico	18		
Métodos de caracterización de compuestos bioactivos en extractos vegetales	Métodos de caracterización de compuestos bioactivos en extractos vegetales	PudMed Central	20	2016-2022	Inglés Español
		Science direct	15		
		Google académico	25		
		MDPI	2		
Desarrollar y optimizar una formulación a base de Echinacea purpúrea que se administre vía oral y que	Formulación y estabilidad de productos fitoterapéuticos	Science Direct	12	2016-2025	Inglés Español
		Google académico	20		
		Pubmed	15		

pueda funcionar como un agente inmunomodulador profiláctico de la enfermedad de TIC considerando parámetros de estabilidad, biodisponibilidad y palatabilidad para su administración en caninos.	con <i>Echinacea purpurea</i>				
	Propiedades fisicoquímicas y biodisponibilidad de metabolitos en formulaciones orales	Science Direct Google académico Pubmed	18 25 22	2016–2025	Inglés Español
	Factores que influyen en la palatabilidad de formulaciones orales en veterinaria	Science Direct Google académico Pubmed	10 17 13	2016–2025	Inglés Español

Fuente: Elaboración propia basada en los datos encontrados

3.6 Criterios de Inclusión y Exclusión

Inclusión:

- Literatura científica y estudios previos sobre Traqueobronquitis Infecciosa Canina (TIC), incluyendo mecanismos de transmisión, patógenos involucrados y respuesta inmune.
- Datos y análisis sobre compuestos bioactivos presentes en el extracto de *Echinacea purpurea*, con énfasis en su potencial inmunoestimulante y antimicrobiano.
- Métodos de caracterización fitoquímica validados para la identificación de metabolitos bioactivos en extractos vegetales.

Exclusión:

- Estudios que no incluyen información específica sobre los patógenos de TIC o su interacción con el sistema inmune canino.
- Datos experimentales obtenidos en modelos animales vivos, ya que la investigación se centra en el desarrollo del análisis sin pruebas en caninos.
- Fuentes con metodologías no reproducibles o que carezcan de validación científica.

3.7 Variables de la investigación

Tabla 3. Variables operacionales de los objetivos específicos de la investigación.

Objetivo	Variables	Indicador	Definición conceptual	Definición operacional	Definición instrumental
Indagar las causas de la patología de Traqueobronquitis Infecciosa en caninos y los factores apremiantes de su transmisión, para determinar los mecanismos y patógenos responsables de la respuesta inmune del canino y el daño tisular que causa en el sistema respiratorio.	Causas de la Traqueobronquitis Infecciosa Canina (TIC) y factores de transmisión.	Patógenos involucrados, mecanismos de transmisión, respuesta inmune y daño tisular en el sistema respiratorio de los caninos.	Traqueo bronquitis infecciosa canina es una patología canina, altamente contagiosa que se presenta a nivel de vías respiratorias altas, es una enfermedad infectocontagiosa de alta morbilidad que no discrimina sexo o raza, se presenta comúnmente en zonas donde existe hacinamiento canino (Gutiérrez M. & Peralta A, 2022)	Se investigará la literatura científica sobre los patógenos de TIC, su transmisión y los efectos en el sistema respiratorio canino.	Se realizará una revisión de literatura en bases científicas como PubMed y Science direct, PubMed Central, centrada en los agentes causantes y la respuesta inmune en caninos.
Caracterizar el extracto de raíces y hojas de la <i>Echinacea purpurea</i> mediante análisis fitoquímicos para caracterizar los compuestos bioactivos (metabolitos) con potencial inmunoestimulante y antimicrobiano presentes en el extracto	Compuestos bioactivos de <i>Echinacea purpurea</i> con propiedades inmunoestimulantes y antimicrobianas.	Compuestos fitoquímicos, actividad inmunoestimulante y actividad antimicrobiana de los extractos.	Son compuestos químicos derivados del metabolismo primario, cumplen múltiples funciones no vitales en las plantas, interviniendo en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente para protegerlas de los depredadores herbívoros, virus, hongos y bacterias (Shilpa et al., 2010; Pérez-Alonso y Jiménez, 2011).	Se identificarán los compuestos bioactivos de <i>Echinacea purpurea</i> mediante análisis fitoquímico de sus extractos químicos	Se identificarán y cuantificarán los compuestos bioactivos presentes en los extractos de raíces y hojas de <i>Echinacea purpurea</i> mediante técnicas de análisis fitoquímico, como la espectrometría de masas
Desarrollar y optimizar una formulación a base de <i>Echinacea purpúrea</i> que se	Formulación oral de <i>Echinacea purpurea</i> como	Composición y diseño de la formulación basada en	Creación de una formulación oral a partir del extracto de <i>Echinacea purpurea</i> , diseñada para	Desarrollo teórico y experimental de la formulación,	Revisión bibliográfica y estudios experimentales

administre vía oral y que pueda funcionar como un agente inmunomodulador profiláctico de la enfermedad de TIC considerando parámetros de estabilidad, biodisponibilidad y palatabilidad para su administración en caninos.	agente inmunomodulador profiláctico	<i>Echinacea purpurea</i>	ser administrada en caninos como agente inmunomodulador profiláctico de la enfermedad de TIC, considerando estabilidad, biodisponibilidad y palatabilidad.	seleccionando excipientes adecuados que favorezcan su estabilidad química, biodisponibilidad oral y aceptación en caninos.	para la selección de los excipientes más adecuados en términos de compatibilidad con el extracto de <i>Echinacea purpurea</i> , facilidad de administración y potencial inmunomodulador
--	-------------------------------------	---------------------------	--	--	---

Fuente: Elaboración propia basada en los datos encontrados.

3.8 Descripción del procedimiento de recolección y análisis de datos

La recolección de datos se lleva a cabo a través de un proceso estructurado en el cual se obtiene información relevante para responder a los objetivos de la investigación. Para ello, se emplean herramientas y fuentes confiables, como bases de datos científicas, artículos de revisión, estudios clínicos y reportes de casos sobre las temáticas relacionadas con la traqueobronquitis infecciosa canina, los metabolitos secundarios de *Echinacea purpurea* y la formulación de extractos. La información obtenida es sistemática y rigurosamente seleccionada para asegurar su validez.

Una vez recopilados los datos, se envían muestras al laboratorio para realizar los análisis necesarios. Los análisis incluyen tanto la caracterización de los compuestos presentes en los extractos de *Echinacea purpurea* como las pruebas de efectividad de la formulación propuesta. Estos análisis se llevan a cabo mediante técnicas químicas y microbiológicas apropiadas, que permiten identificar y cuantificar los metabolitos activos y evaluar sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

Para garantizar la fiabilidad de los resultados, se emplean programas especializados en el análisis de datos, tales como software de estadística y análisis de datos científicos. Estos programas facilitan la interpretación de los resultados, permitiendo la evaluación precisa de la

eficacia de las formulaciones y la identificación de los compuestos bioactivos presentes en los extractos.

3.9 Descripción de instrumentos y técnicas

Para la obtención de los resultados experimentales en esta investigación, se emplearon diversos instrumentos y técnicas, tanto para la extracción de los compuestos bioactivos de *Echinacea purpurea* como para los análisis posteriores. Se describen las técnicas utilizadas:

Extracción por Soxhlet:

El primer paso en el proceso de obtención de los compuestos bioactivos fue la extracción mediante el método Soxhlet, que es un proceso eficiente para extraer componentes solubles de las plantas utilizando solventes orgánicos. Para este proceso, se emplearon los siguientes disolventes:

- Metanol
- Diclorometano
- Hexano

Cada disolvente fue utilizado en un total de 5 ciclos de sifoneo para asegurar la extracción completa de los metabolitos secundarios de las raíces y hojas de *Echinacea purpurea*. Este método permite la extracción continua de los compuestos de interés mediante la evaporación y condensación del disolvente.

Los extractos obtenidos mediante los métodos anteriores fueron sometidos a un análisis de masas utilizando espectrometría de masas. Este análisis permite la identificación y cuantificación de los metabolitos presentes en los extractos, proporcionando información detallada sobre la composición química de los compuestos bioactivos. La espectrometría de masas es una técnica altamente precisa que permite la detección de moléculas en función de su relación masa/carga.

Se realizó otro proceso, en el que se utilizó el método de infusión para obtener extractos a partir de las raíces y hojas de *Echinacea purpurea*, este proceso consistió en sumergir las partes de la planta en agua caliente para permitir la extracción de los compuestos solubles en agua. La

infusión fue realizada a una temperatura controlada para evitar la descomposición térmica de los metabolitos

Una vez obtenido el extracto, se utilizó el proceso de liofilización para eliminar el agua contenida en las infusiones y preservar los compuestos bioactivos, la liofilización se llevó a cabo a través de congelación rápida seguida de sublimación.

Con el extracto liofilizado obtenido, se procedió al desarrollo de una formulación en gel bebible a base de *Echinacea purpurea*. Se diseñaron tres formulaciones diferentes, evaluando sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas. Finalmente, se seleccionó la formulación que presentó mejor aspecto y consistencia de gel, garantizando su estabilidad y facilidad de administración en perros.

3.10 Materiales equipos y condiciones

En la fase actual del desarrollo de este proyecto, se está recopilando la información necesaria para definir de manera precisa los materiales, equipos y reactivos que serán empleados en la formulación final de la propuesta. Esto se debe a que, para determinar los componentes adecuados, primero es crucial obtener más datos sobre la composición, estabilidad y propiedades fisicoquímicas de los ingredientes activos y excipientes involucrados. La selección precisa de estos elementos se realizará tras completar la recopilación de datos experimentales y bibliográficos, permitiendo la formulación óptima.

3.10.1 Materiales utilizados

Materiales Físicos:

- Se utilizaron las partes vegetales de la planta *Echinacea purpurea*, raíces y hojas para la extracción de compuestos bioactivos mediante los métodos de Soxhlet e infusión.
- Cristalería, incluye beakers, probetas para la preparación de soluciones

Materiales Virtuales:

- Se consultaron fuentes bibliográficas en plataformas como PubMed, ScienceDirect, y Google Scholar, para obtener artículos relevantes y estudios relacionados con los metabolitos secundarios de *Echinacea purpurea*, la traqueobronquitis infecciosa canina y su tratamiento.

3.10.2 Equipos:

Método Soxhlet:

- Extractor Soxhlet
- Características: Aparato de vidrio para la extracción de compuestos solubles mediante ciclos de disolventes.

Rotavapor (Evaporador rotatorio):

- Marca: Buchi
- Características: Sistema de evaporación a presión reducida para la remoción de disolventes tras la extracción.

Infusión de Plantas:

- Recipientes de vidrio para infusión: Se utilizaron para sumergir las raíces y hojas de *Echinacea purpurea* en agua caliente para realizar la extracción.

Liofilización:

3.10.3 Reactivos:

Metanol:

- Marca: brindado por el laboratorio Unibe
- Usos: Solvente utilizado en el proceso de extracción Soxhlet para disolver los compuestos bioactivos de *Echinacea purpurea*.

Diclorometano:

- Marca: brindado por el laboratorio Unibe
- Usos: Utilizado para extraer los metabolitos solubles en cloroformo.

Hexano:

- Marca: brindado por el laboratorio Unibe
- Usos: Empleado para la extracción de compuestos lipofílicos durante el proceso de Soxhlet.

Agua Destilada:

- Usos: Para la preparación de infusiones y otros procesos de extracción que no requirieron solventes orgánicos.

Reactivos para Espectrometría de Masas:

- Usos: Utilizados para el análisis cualitativo y cuantitativo de los extractos obtenidos, permitiendo la identificación de metabolitos activos.

3.11 Diseño de experimentos:

El diseño experimental para esta investigación está basado en la caracterización de los compuestos bioactivos de *Echinacea purpurea* y la evaluación de su posible efectividad como agente inmunomodulador. A continuación, se detallan los procedimientos experimentales y su organización.

1. Extracción de Compuestos de *Echinacea purpurea* mediante el Método Soxhlet

El objetivo es extraer los metabolitos bioactivos principalmente compuestos inmunoestimulantes y antimicrobianos presentes en las raíces y hojas de *Echinacea purpurea* utilizando diferentes disolventes orgánicos.

- Procedimiento:

1. Se realiza la selección y preparación del material, las hojas de *Echinacea purpurea* se separan cuidadosamente y se secan en estufa a 30°C durante una semana para eliminar la humedad residual, posteriormente, se trituran para aumentar el área superficial y facilitar la extracción de los compuestos activos.
2. Se preparan los disolventes, se utilizan tres disolventes orgánicos: metanol, diclorometano y hexano, cada uno con propiedades específicas para disolver diferentes tipos de compuestos.
3. Se realiza una extracción con Soxhlet, usando 5 ciclos (sifonados) para asegurar una extracción completa, cada disolvente se usa por separado.

4. Posteriormente, el solvente utilizado se evapora mediante un rotavapor, dejando un extracto concentrado de los compuestos de *Echinacea purpurea*.

- Control de Variables: El tiempo de extracción, la cantidad de muestra y la temperatura se controlan para evitar descomposición de los compuestos activos.

2. Extracción de Compuestos mediante Infusión

El objetivo es extraer los compuestos solubles en agua mediante el proceso de infusión, en particular los compuestos hidrosolubles con potencial inmunomodulador.

- Procedimiento:
 1. Se utilizan las raíces y hojas de *Echinacea purpurea* para la preparación de la infusión.
 2. Las muestras trituradas se sumergen en agua caliente (a una temperatura de 70-80 °C) durante 30 minutos para liberar los compuestos solubles en agua.
 3. La mezcla se filtra para eliminar las partículas sólidas y obtener el extracto líquido.
- Control de Variables: El tiempo de infusión y la temperatura se controlan para asegurar la estabilidad de los metabolitos y evitar la degradación térmica.

3. Liofilización de Extractos

El objetivo es eliminar el agua de los extractos obtenidos sin perder la actividad biológica de los compuestos, asegurando una mayor estabilidad y facilidad de manejo.

- Procedimiento:
 1. El extracto líquido obtenido mediante infusión es concentrado a temperatura ambiente.
 2. El extracto concentrado es sometido a liofilización (proceso de congelación y sublimación) en un liofilizador a baja presión para eliminar el agua.
- Control de Variables: Se mantiene un control estricto de la temperatura y la presión en el liofilizador para preservar los metabolitos activos en su forma original.

4. Análisis de los Extractos: Caracterización Fitoquímica

El objetivo es identificar y cuantificar los metabolitos bioactivos presentes en los extractos de *Echinacea purpurea*.

- Procedimiento:

1. Se realiza un análisis utilizando espectrometría de masas (modelo TSQ Quantis, Thermo Fisher Scientific) para la identificación de metabolitos basados en sus espectros de masas.
2. Se emplean técnicas espectroscópicas como FT-IR para determinar los microorganismos mediante placas de cultivo

CAPÍTULO IV - ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para la determinación de los principales metabolitos de la planta de *Echinacea purpurea*, se tomaron en consideración técnicas de separación cromatográfica a la planta en crudo, la cual se recolectó del Jardín Botánico El Arca ubicado en Santa Bárbara, Heredia. Las técnicas cromatográficas propuestas se complementarán entre sí, por lo que se realizarán pruebas de TLC, espectrometría infrarroja y cromatografía de masas de la muestra vegetal. Cabe mencionar que en Costa Rica la *Echinacea purpurea* no es una planta perenne, por lo cual esta crece por estaciones, razón por la cual la recolección de la muestra estuvo atada a factores como crecimiento o floración de la planta por la temporada.

Procesamiento del material vegetal

Como parte del procesamiento de la muestra para la posterior extracción de metabolitos se realizó el siguiente proceso:

Se tomó la muestra de 4 plantas de edad variable y se procedió a limpiar todo el material vegetal, tanto hojas, como tallos y también raíces; se ha demostrado que muchos compuestos inmunomoduladores de la *Echinacea purpurea* se encuentran tanto en las flores como en los tallos, por lo que se retiran con cuidado de la tierra y se colocan en bandejas de aluminio, se lavan con agua y se ponen a secar en una estufa de convección a 35 °C durante 24 horas; una vez secas se toma todo el material vegetal y se reduce su tamaño cortando con unas tijeras a pequeños trozos para tener una mejor superficie de contacto para la extracción.

Extracción de los metabolitos secundarios de la *Echinacea purpurea*.

La extracción de los metabolitos secundarios de *Echinacea purpurea* es un proceso fundamental para obtener los compuestos bioactivos presentes en sus raíces y hojas, los cuales se destacan por sus propiedades inmunoestimulantes y antimicrobianas. El objetivo de esta extracción fue aislar estos compuestos para su posterior análisis y determinación de su perfil fitoquímico. El procedimiento fue cuidadosamente diseñado para asegurar la eficiencia y selectividad en la extracción de los metabolitos

La extracción de los metabolitos secundarios se llevó a cabo utilizando el método Soxhlet, una técnica clásica y eficiente para la obtención de compuestos solubles de las matrices vegetales. Se emplearon tres disolventes orgánicos diferentes: metanol, diclorometano y hexano, con el fin de abarcar una amplia gama de compuestos bioactivos de distinta polaridad. Para cada disolvente, se realizaron cinco ciclos de sifonado, lo cual permitió la recirculación del disolvente sobre la muestra vegetal, extrayendo gradualmente los metabolitos deseados.

Para la extracción de los metabolitos de la planta se utilizaron 3 solventes distintos, el primero fue el hexano, segundo fue el diclorometano y, por último, se utilizó metanol, esto se realizó para obtener metabolitos de distintas polaridades de la planta, para poder observar y hacer un barrido de los compuestos que potencialmente puede tener la planta, la extracción se observa en la siguiente figura.

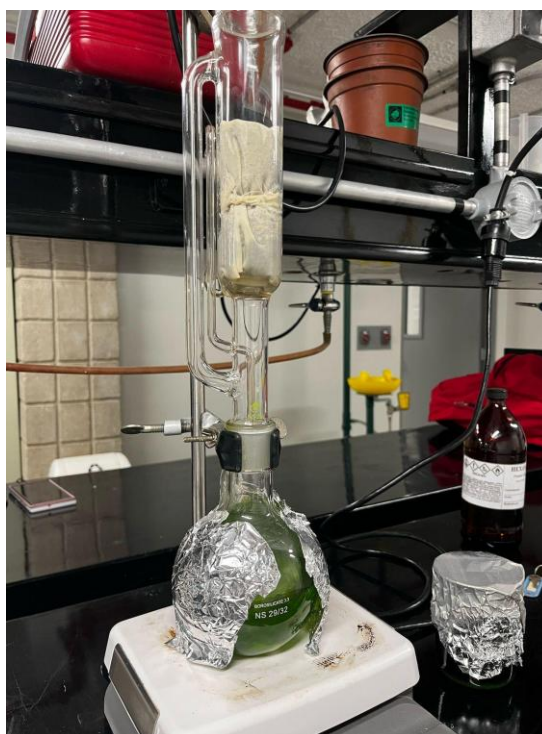


Figura 1. Sistema de soxhlet para la obtención de metabolitos secundarios de la planta

Como metodología de extracción se toman 250 mL de cada uno de los solventes por separado y se coloca en un balón del sistema de soxhlet, seguidamente se toman 25,035 gramos

del material vegetal de la *Echinacea purpurea* y se envuelven en una manta y formando un “tamal”, en donde se coloca en la trampa del sohxlet y se deja correr los solventes durante 2 horas o un tiempo análogo a los 5 sifones, se espera que la mayoría de compuestos de interés se encuentren en la última extracción de metanol, ya que este se utilizó para extraer compuestos polares, como los flavonoides y ácidos fenólicos, el diclorometano es usado para aislar compuestos lipofílicos, como los terpenoides y alcaloides y el hexano es aplicado para la extracción de lípidos y otras sustancias apolares.

Cada disolvente se recirculó varias veces para maximizar la extracción de los metabolitos. Tras completar los ciclos de extracción, se recolectó el extracto de cada disolvente en frascos separados para su posterior análisis mediante técnicas de cromatografía.

Determinación de Análisis por TLC.

Para la determinación del análisis por cromatografía de capa fina se siguió la metodología siguiente:

Se tomaron los extractos obtenidos mediante la extracción con sohxlet, seguidamente se realizaron placas de sílica gel en un tamaño de 4 x 10 cm y se aplicó una pequeña cantidad de cada uno de los compuestos a analizar, tanto en los solventes de metanol, hexano y diclorometano; una vez punteadas las placas se preparó una fase móvil que consistía en metanol:cloroformo 1:1 y se corrió la cromatografía de dos placas durante un tiempo de 15 minutos, las placas se observan en la figura siguiente.



Figura 2. Placas de la cromatografía de las muestras extraídas

Las placas se examinaron mediante luz ultravioleta arrojando los resultados que se ven en las figuras siguientes:

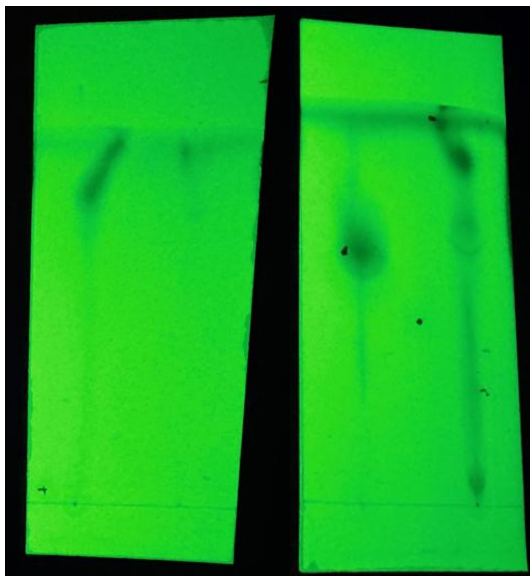


Figura 3. Placas obtenidas luego de la cromatografía vistas con la longitud de onda de 360 nm

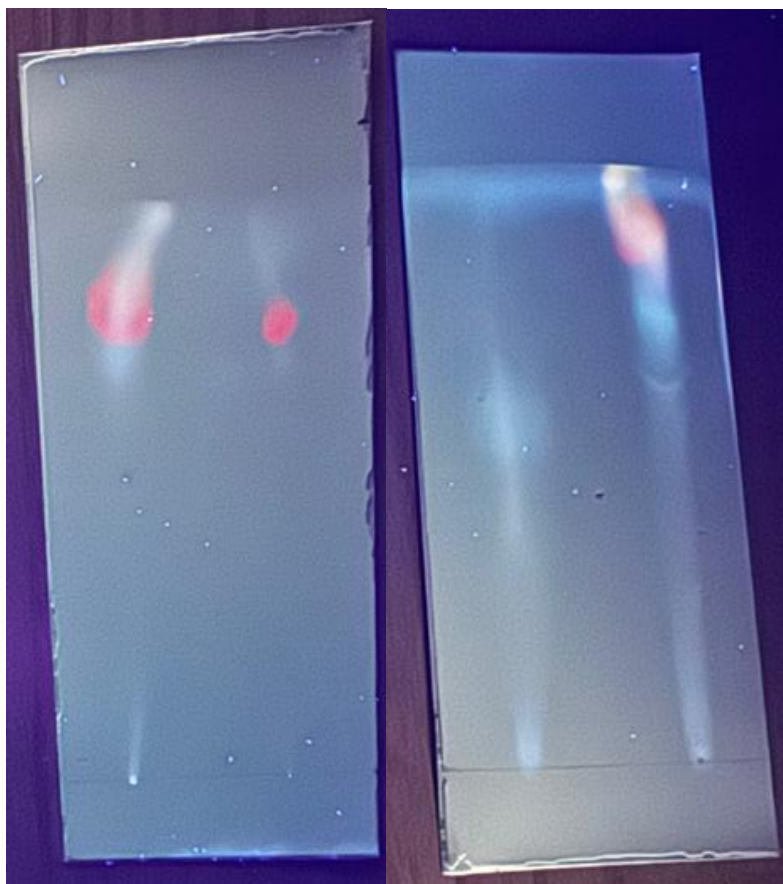


Figura 4. Placas obtenidas luego de la cromatografía vistas con la longitud de onda de 254 nm

De las figuras anteriores se observa que se tiene una buena separación de los compuestos para las extracciones de metanol y especialmente para la de diclorometano y se observa que se notan compuestos de interés, como pueden ser el ácido caftárico, cuya estructura se observa en la figura a continuación.

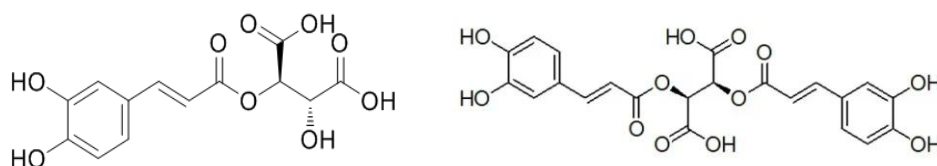


Figura 5. Estructuras correspondientes al ácido caftárico y ácido chicorico (en orden)

Se observa que compuestos que se reportan en literatura como el ácido caftárico que tiene un anillo fenólico que puede absorber a una longitud a la analizada y que también el ácido chicorico que ambos son derivados de caféina se observan como positivos en la presencia de las

placas de TLC vistas a través de la luz ultravioleta. Otro de los compuestos que potencialmente pueden estar presentes es el ácido caféico férrico y tartárico y el ácido p-cumarilsinatartárico que son compuestos antes detallados, se observa que cotejando con la literatura el ácido cafárico tiene actividad inhibitoria del virus de la influenza A (H1N1), la influenza e y el virus respiratorio sincitial (RSV-A), observándose una reducción génica viral y una disminución de las células tratadas en estudio (Lee et al, 2024)

En el caso del ácido chicórico, este ha mostado alta actividad en contra de virus, inhibiendo la integrasa de virus como el VIH y reduciendo la inefectividad del HSV-1 en células tratadas con este ácido. (Ahmadi, 2024)

Determinación de metabolitos mediante análisis de espectrometría Infrarroja

Para la determinación de los principales grupos funcionales de la planta se realiza también la técnica de espectrofotometría infrarroja, en donde se observan los principales grupos funcionales mediante la vibración de estos en un espectro electromagnético, el análisis realizado de las muestras se observa en las siguientes figuras:

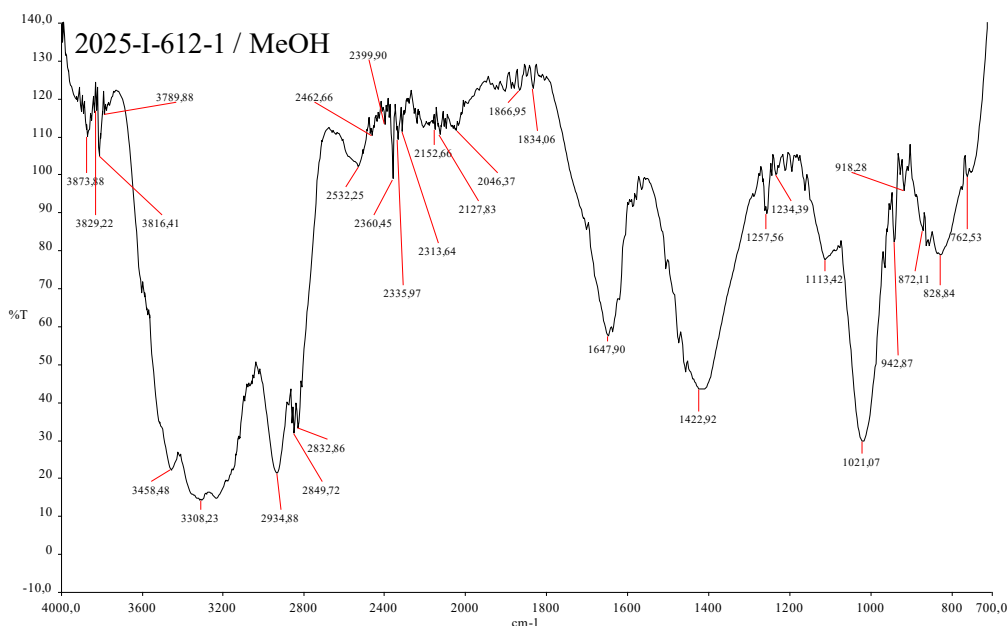


Figura 6. Espectro de absorción Infrarroja de la muestra de Echinacea en metanol

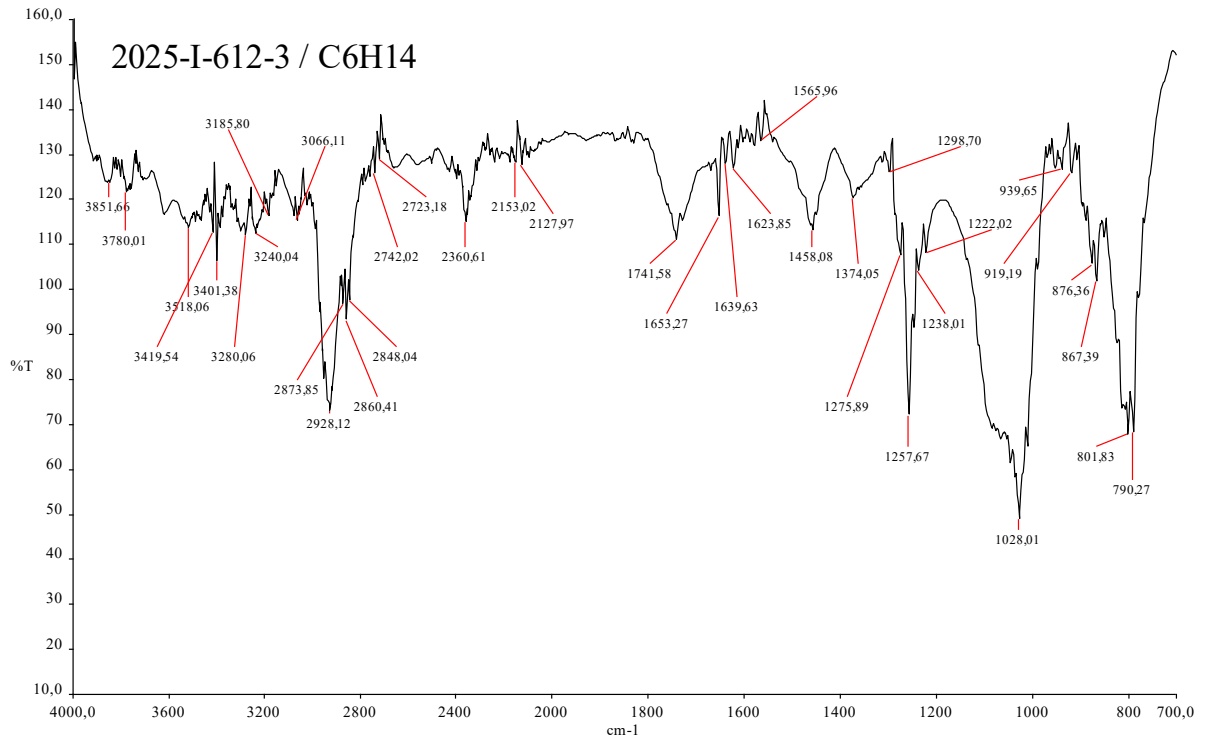


Figura 7. Espectro de absorción Infrarroja de la muestra de Echinacea en hexano

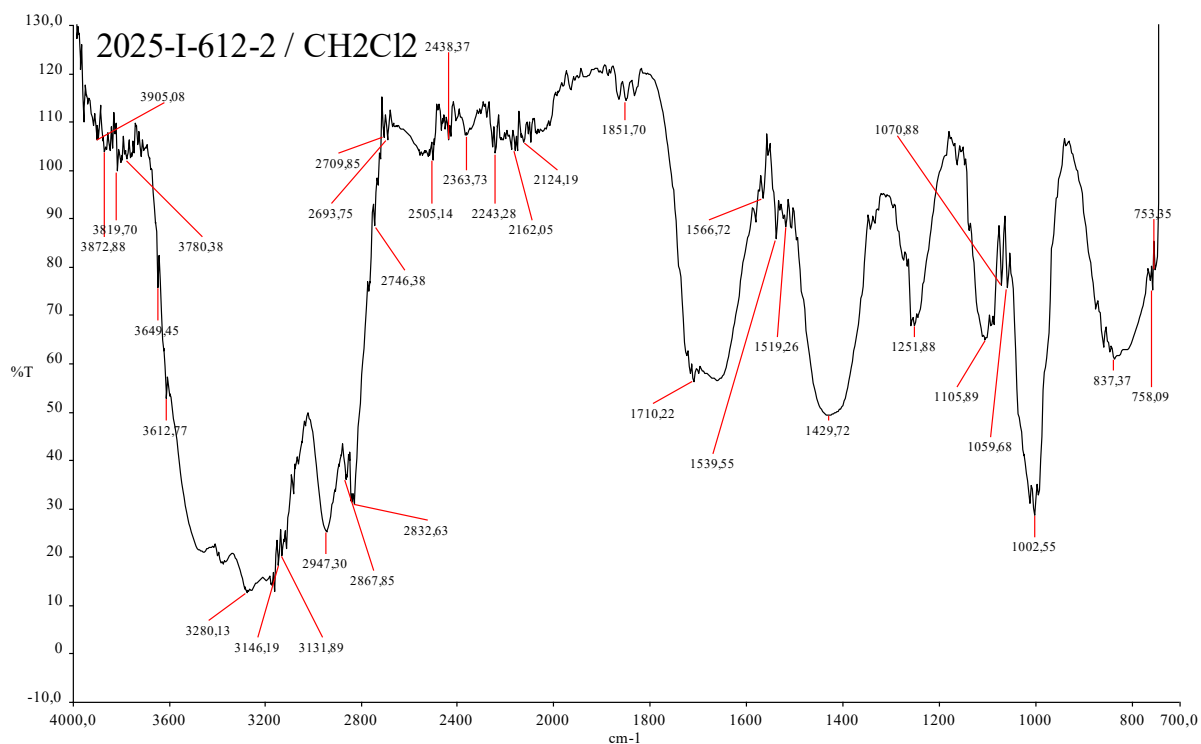


Figura 8. Espectro de absorción Infrarroja de la muestra de Echinacea en diclorometano

Se nota que para el espectro de metanol se pueden observar las siguientes bandas:

Tabla 4. Datos de los análisis en comparación con el ácido caftárico

Pico obtenido (cm ⁻¹)	Pico según literatura (cm ⁻¹)	Vibración grupo funcional
3308	3433	Estiramiento O - H
1422	1361	Estiramiento C = O
1647	1604	Estiramiento C = C
1257	1246	Estiramiento C – O fenol

1113	1152	Estiramiento C - O éter
------	------	-------------------------

Fuente: Świdorski et al, 2024.

Tabla 5. Datos de los análisis en comparación con el ácido chicórico

Pico obtenido (cm ⁻¹)	Pico según literatura (cm ⁻¹)	Vibración grupo funcional
3458	3412	Estiramiento O - H
1113	1167	Flexión O - H
1834	1746	Estiramiento C = O ácido tartárico
1647	1682	Estiramiento C = O ácido caféico
1422	1517	Flexión C - H
1257	1300	Estiramiento C – O fenol
828	853 - 521	Flexión COO-

Fuente: Jabłońska-Trypuć et al, 2020.

Se nota de los espectros infrarrojo que las principales bandas obtenidas absorben en las longitudes cercanas a 1400 – 1300; 1600 – 1700 y 3400 – 3300; que son picos específicos de compuestos carbonílicos, aromáticos polisustituídos y de compuestos que contienen grupos O-

H, los cuales son referentes de las moléculas de ácido caftárico y ácido chicórico antes mencionadas

Determinación de metabolitos mediante Cromatografía de masas

Se llevó a cabo un análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) de los extractos de metano, diclorometano y hexano de la *Echinacea purpurea* con el objetivo de identificar los compuestos químicos presentes en la muestra. La *Echinacea purpurea* es conocida por contener diversos metabolitos bioactivos que contribuyen a sus propiedades farmacológicas, incluyendo alcaloides, flavonoides, polisacáridos, glicoproteínas, ácidos fenólicos y terpenoides (Burlou-Nagy et al., 2022).

El análisis por cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) de extracto metanólico de *Echinacea purpurea*, reveló la presencia de treinta y dos (32) componentes detectables, los cuales fueron identificados mediante la interpretación de sus espectros de masas y la comparación con bases de datos espectrales de referencia (NIST, Wiley, donde sea aplicable).

Entre los compuestos identificados se encuentran una variedad de metabolitos secundarios, clasificados con base en la estructura identificada, y no todos los grupos mencionados en la literatura pueden ser detectados o identificados con certeza mediante GC-MS):

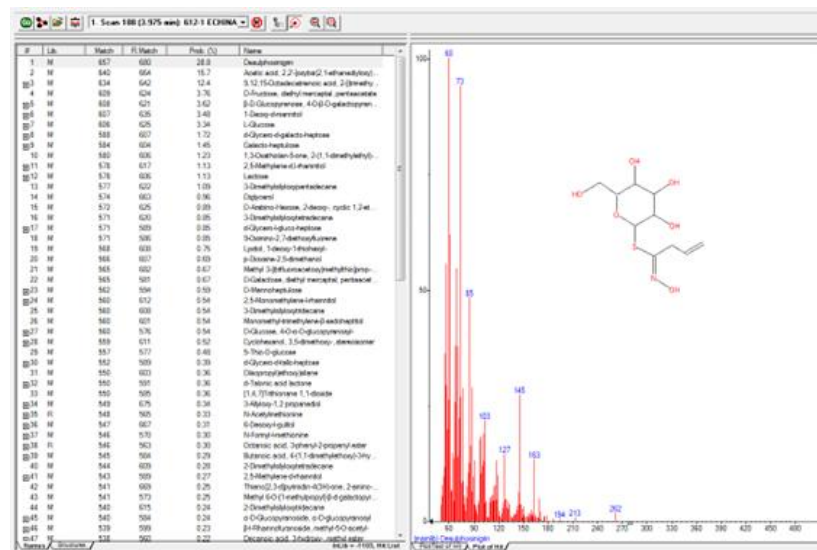
1. Nombre Común: Estreptidina

IUPAC: O-2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O-[2,6-diamino-2,6-dideoxi- α -L-idopiranosil-(1 \rightarrow 3)]-D-ribofuranosa

Fórmula Molecular: C₂₁H₃

Grupo Químico: Aminoglicósido

Los aminoglicósidos no son mencionados como componentes principales de *Echinacea purpurea* en la literatura proporcionada.



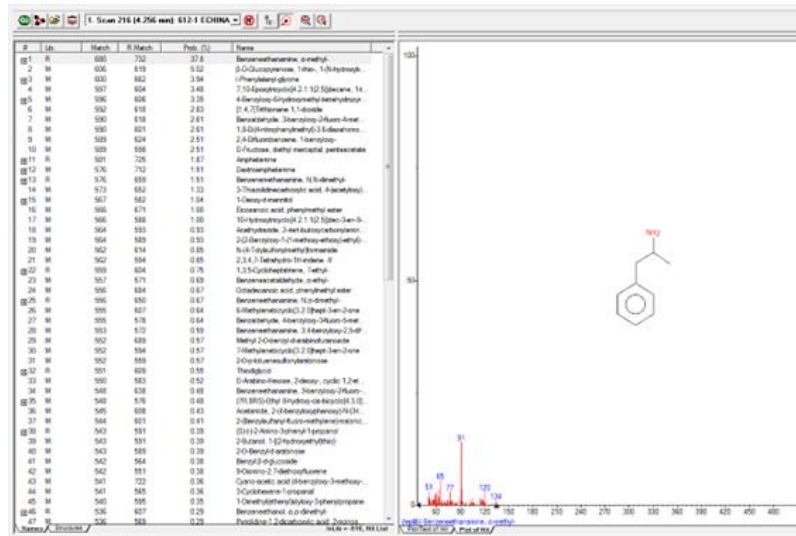
2. Nombre Común: Anfetamina

Nombre IUPAC: (±)-1-fenilpropan-2-amina

Fórmula Molecular: C₉H₁₃N

Grupo Químico: Amina, Fenetilamina

La anfetamina no es un componente natural de *Echinacea purpurea*, su presencia podría ser un contaminante o un resultado inesperado del análisis.



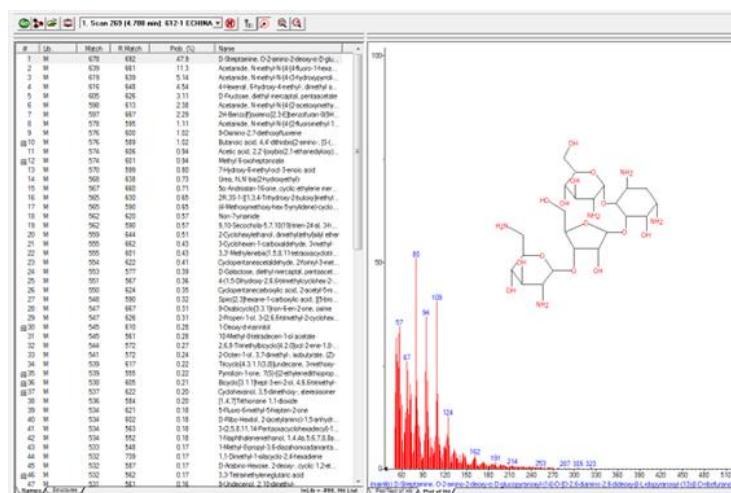
3. Nombre Común: Alicina

Nombre IUPAC: Ácido S-2-propenil tio-2-propen-1-sulfinitoico

Fórmula Molecular: C₆H₁₀OS₂

Grupo Químico: Tiosulfonato

Los compuestos organosulfurados no se mencionan como un grupo principal en la literatura proporcionada.



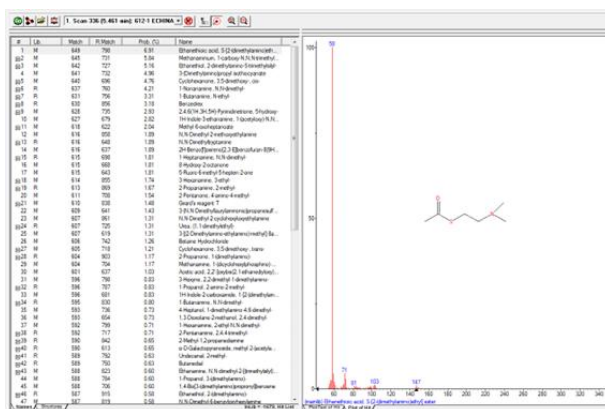
4. Nombre Común: S-etil 3-((1-metiletil)amino)propanoato

Nombre IUPAC: Etil 3-(isopropilamino)tiopropionato

Fórmula Molecular: C₁₀H₂₀N₁S₁O₂

Grupo Químico: Tioéster, Amina

Los tioésteres no se mencionan como un grupo principal.



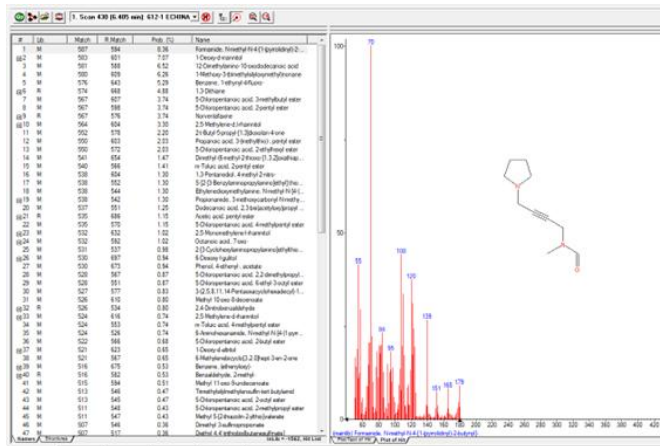
5. Nombre Común: N-metil-N-(4-(1-pirrolidinil)-2-butinil)formamida

Nombre IUPAC: N-metil-N-[4-(pirrolidin-1-il)but-2-in-1-il]formamida

Fórmula Molecular: C₁₀H₁₆N₂O

Grupo Químico: Amida, Amina, Alquino

Las amidas no se mencionan como un grupo principal.



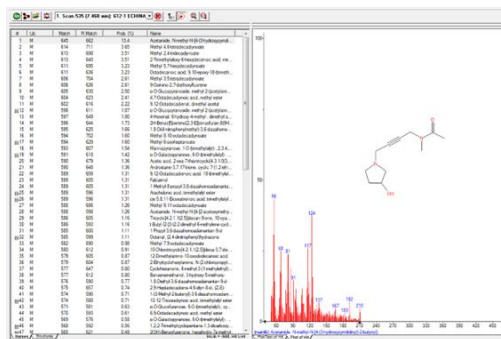
6. Nombre Común: Acetilfentanilo

Nombre IUPAC: *N*-(1-fenilpiperidin-4-il)-*N*-fenilacetamida

Fórmula Molecular: $C_{21}H_{26}N_2O$

Grupo Químico: Amida, Amina

El acetilfentanilo es un opioide sintético y no un componente natural de *Echinacea purpurea*. Su presencia podría ser un contaminante.



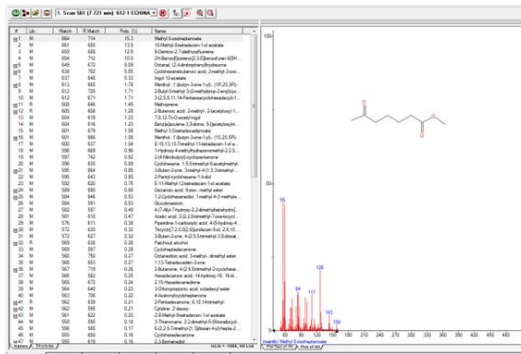
7. Nombre Común: Metil cetona de ácido adípico (no sistemático)

Nombre IUPAC: Metil 6-oxoheptanoato

Fórmula Molecular: $C_8H_{14}O_3$

Grupo Químico: Éster, Cetona

Los ésteres y cetonas de cadena media no se mencionan como componentes principales



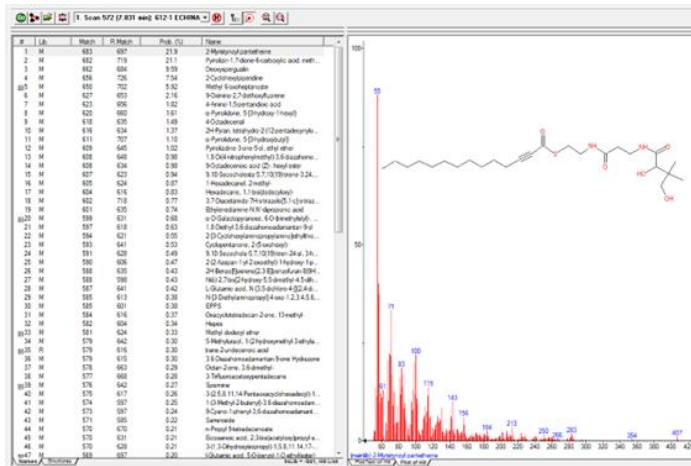
8. Nombre Común: N-(2-Mercaptoetil)palmitoilamida

Nombre IUPAC: N-(2-sulfaniletíl)hexadecanamida

Fórmula Molecular: C₂₂H₄₁NO₂S

Grupo Químico: Amida, Tíol, Alquino, Amina cíclica

Las amidas y tioles no se mencionan como grupos principales.



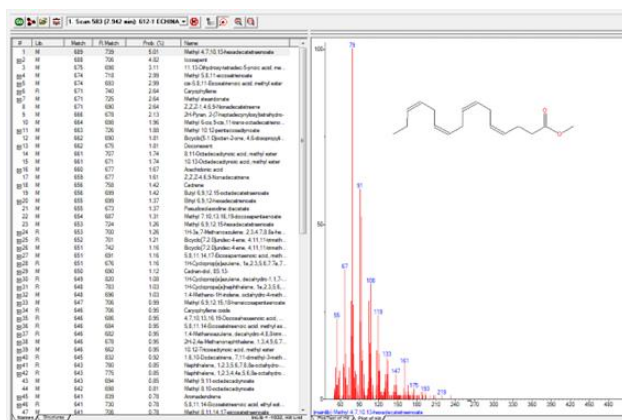
9. Nombre Común: Metil araquidonato

Nombre IUPAC: Metil (5Z,8Z,11Z,14Z)-icosa-5,8,11,14-tetraenoato

Fórmula Molecular: C₂₁H₃₂O₂

Grupo Químico: Ácido graso poliinsaturado

Los ácidos grasos se mencionan como componentes de *Echinacea purpurea*, aunque el araquidonato no está específicamente listado.



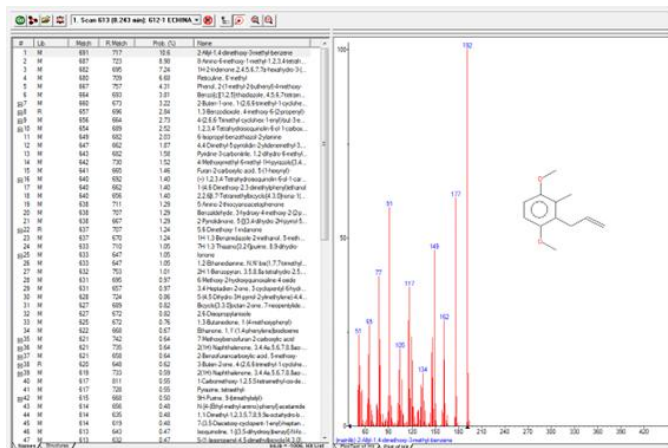
10. Nombre Común: 2,4-Dimetoxiestirilbenceno

Nombre IUPAC: 1-(2,4-dimetoxifenil)-3-fenilprop-2-eno

Fórmula Molecular: C₁₇H₁₈O₂

Grupo Químico: Éter aromático, Alqueno aromático

Los éteres aromáticos no se mencionan como un grupo principal.



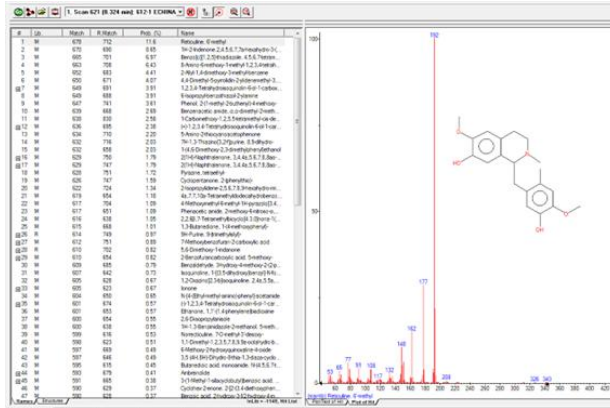
11. Nombre Común: Morfina

Nombre IUPAC: (5α,6α)-7,8-didehidro-4,5-epoxi-17-metilmorfina-3,6-diol

Fórmula Molecular: C₁₇H₁₉NO₃

Grupo Químico: Alcaloide, Opiáceo

La morfina no es un alcaloide presente en *Echinacea purpurea*. Su presencia podría ser un contaminante. Los alcaloides pirrolizidínicos mencionados (tussilagina e isotussilagina) no fueron identificados en este análisis.



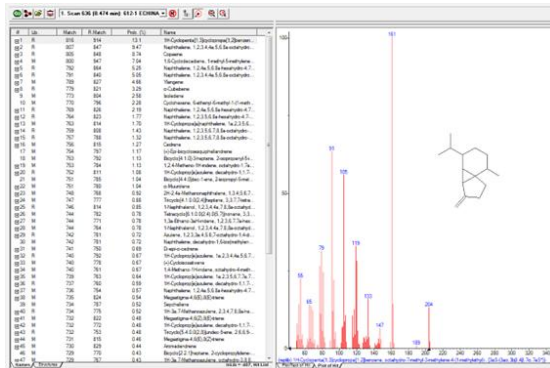
12. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: (1 α ,3 β ,6 α ,6 β)-7-metil-3-metileno-4-(propan-2-il)octahidrociclopenta[*a*]pentaleno

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₄

Grupo Químico: Hidrocarburo tricíclico

Los hidrocarburos tricíclicos no se mencionan como un grupo principal.



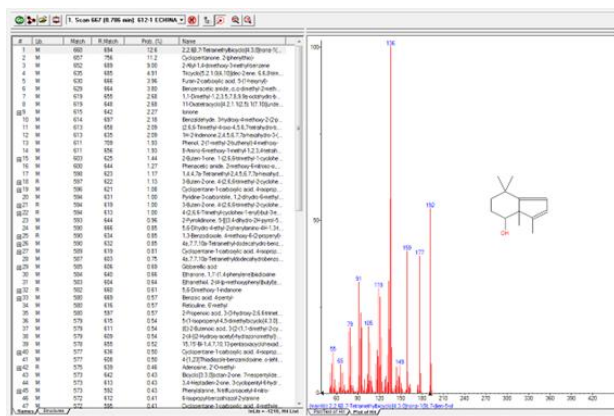
13. Nombre Común: Nopinol

Nombre IUPAC: 2,2,6,6-tetrametilbicyclo[3.1.1]heptan-3-ol

Fórmula Molecular: C₁₁H₂₀O

Grupo Químico: Alcohol bicíclico, Terpenoide

El pineno es un terpenoide mencionado, y el nopinol está estructuralmente relacionado.



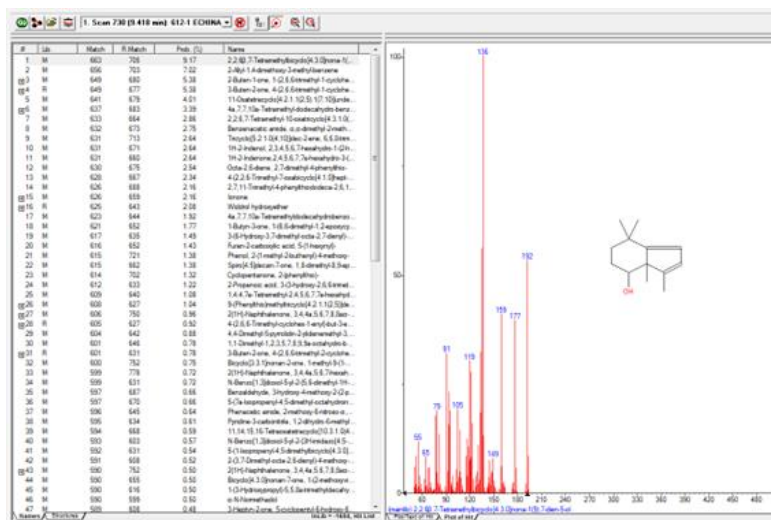
14. Nombre Común: Pin-2-en-6-ol

Nombre IUPAC: 2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-ol

Fórmula Molecular: C₁₀H₁₆O

Grupo Químico: Alcohol bicíclico, Terpenoide

El α -pineno es un terpenoide mencionado y este compuesto es un derivado.



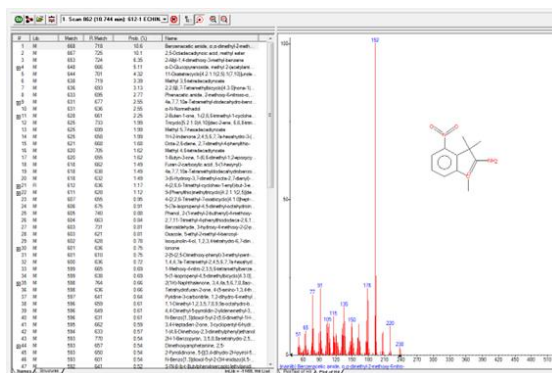
15. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: Metil 2-amino-5-nitrobenzoato

Fórmula Molecular: C₈H₈N₂O₄

Grupo Químico: Éster aromático, Amina aromática, Nitrocompuesto

Los nitrocompuestos no se mencionan como un grupo principal.



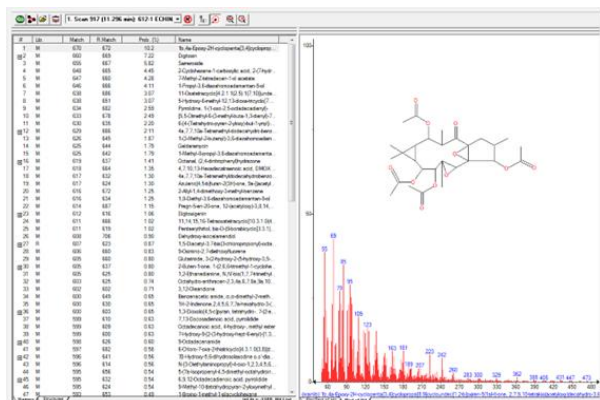
16. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: Metil (1S,3aS,4S,5R,6R,6aS,6bS,9R,10R,12aR)-6-(acetiloxi)-4,5-epoxi-9,10-dihidroxi-3a,6a,6b,9,12a-pentametil-2-oxo-3,3a,4,5,6,6a,6b,7,8,9,10,11,12,12a-tetradecahidrociclopenta[a]ciclopropa[e]ciclododecen-1-carboxilato

Fórmula Molecular: C₃₀H₄₄O₁₀

Grupo Químico: Éster, Epóxido, Cetona, Polifenol (posiblemente)

Esta estructura compleja podría contener motivos estructurales relacionados con los compuestos fenólicos o terpenoides.



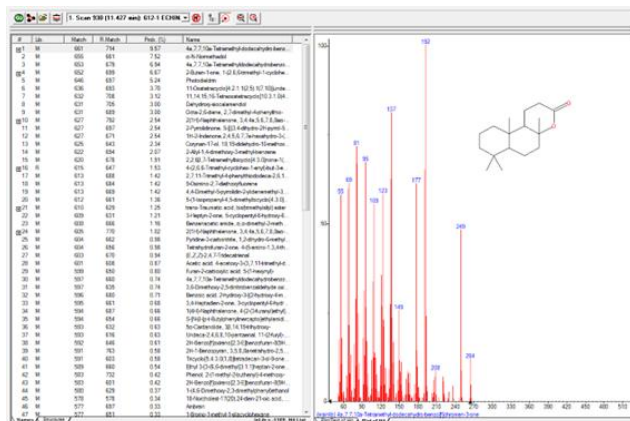
17. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: 4a,7,7-trimetildodecahidro-1H-benzo[c]cromen-3-ona

Fórmula Molecular: C₁₆H₂₄O₂

Grupo Químico: Cetona tetracíclica

Los compuestos tetracíclicos no se mencionan como un grupo principal.



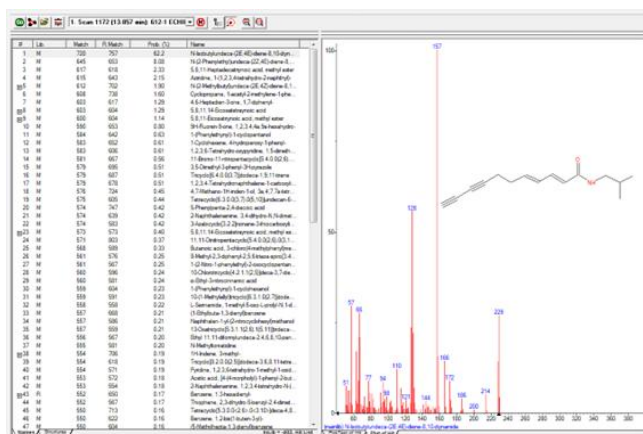
20. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: *N*-(2-metilpropil)tetradeca-4,6-dien-10-inamida

Fórmula Molecular: $C_{21}H_{33}NO$

Grupo Químico: Amida, Alqueno, Alquino

Las amidas no se mencionan como un grupo principal.



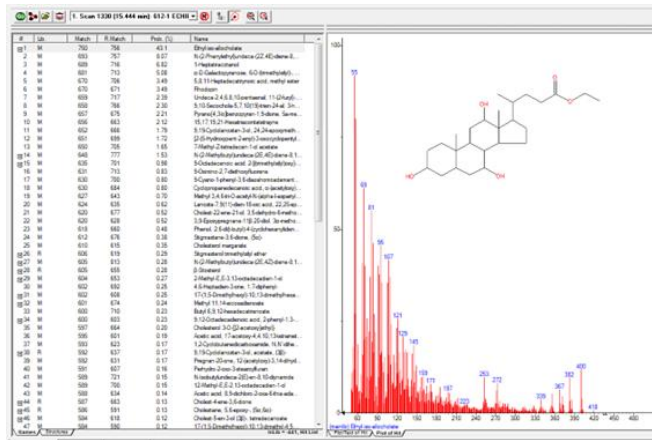
21. Nombre Común: Ácido docosahexaenoico (DHA)

Nombre IUPAC: Ácido (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoico

Fórmula Molecular: $C_{22}H_{32}O_2$

Grupo Químico: Ácido graso poliinsaturado (omega-3)

Los ácidos grasos se mencionan, aunque el DHA no es específicamente listado.



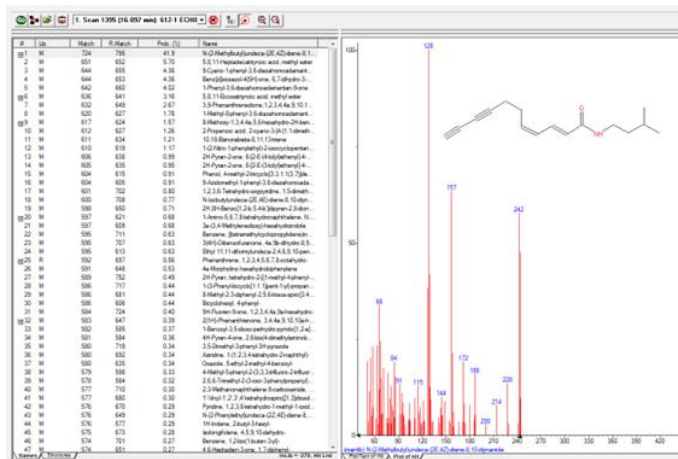
26. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: 2,7-difenil-6-desoxipiridozino[4,5-*e*]pirrolo[1,2-*b*]piridazina-5,8-diona

Fórmula Molecular: $C_{24}H_{14}N_4O_2$

Grupo Químico: Heterociclo aromático, Diona

Los heterociclos aromáticos con nitrógeno podrían estar relacionados con alcaloides, aunque la estructura específica no coincide con los pirrolizidínicos mencionados.



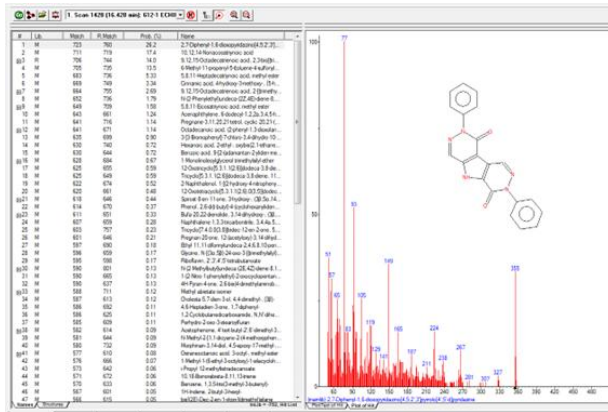
27. Nombre Común: Ácido eicosapentaenoico (EPA)

Nombre IUPAC: Ácido (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenoico

Fórmula Molecular: $C_{20}H_{30}O_2$

Grupo Químico: Ácido graso poliinsaturado (omega-3)

Los ácidos grasos se mencionan.



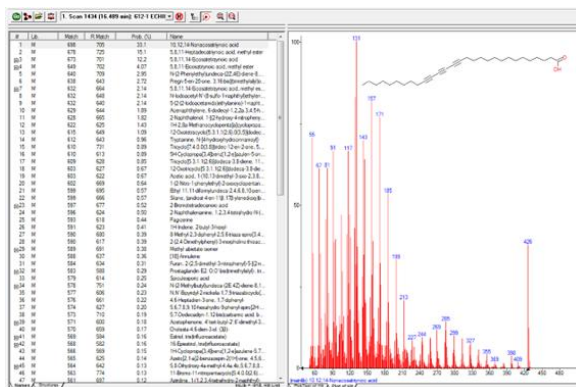
28. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: 7,7'-dimetoxi-[6,6'-biindeno]-1,1',4,4'-tetrona

Fórmula Molecular: C₂₂H₁₆O₆

Grupo Químico: Cetona aromática dimérica, Éter aromático

Los compuestos aromáticos no se mencionan como un grupo principal en esta forma.



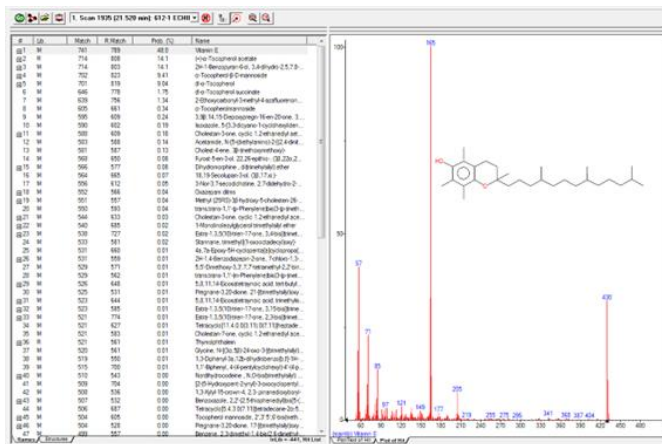
29. Nombre Común: Vitamina E (alfa-tocoferol)

Nombre IUPAC: (2R,4'R,8'R)-5,7,8-trimetil-2-[(4',8',12'-trimetiltridecil)]cromano-6-ol

Fórmula Molecular: C₂₉H₅₀O₂

Grupo Químico: Tocoferol, Cromano, Fenol

Los compuestos fenólicos son un grupo principal mencionado. Los tocoferoles son compuestos fenólicos.

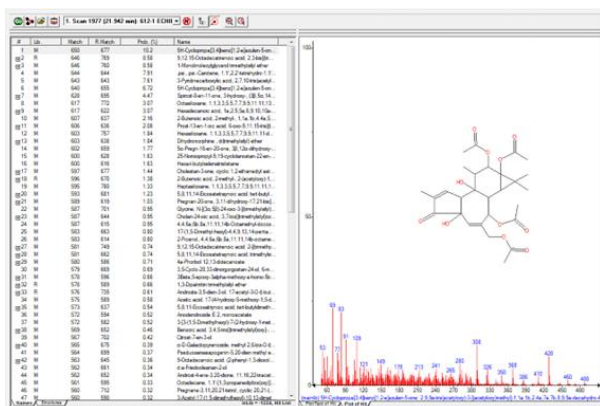


30. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: (1*S*,4*R*,4*aS*,7*aS*,7*bR*,10*aS*,10*bS*)-1-(acetiloxi)-7*b*-hidroxi-4-((2*R*)-2-hidroxiopropil)-10*b*-metil-8-metileno-6-oxo-3*a*,4,4*a*,5,6,7,7*a*,7*b*,10,10*a*,10*b*,11-dodecahidrociclopenta[*a*]ciclopropa[*d*]cicloocten-5-il acetato

Fórmula Molecular: C₂₃H₃₂O

Grupo Químico: Éster, Alcohol, Cetona, Epóxido, Polifenol (posiblemente)



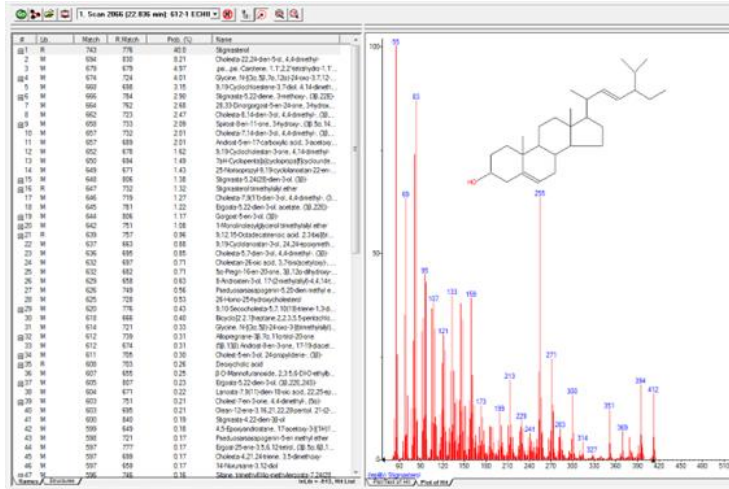
31. Nombre Común: Ergosterol (provitamina D₂)

Nombre IUPAC: (3β,22*E*)-ergosta-5,7,22-trien-3-ol

Fórmula Molecular: C₂₈H₄₄O

Grupo Químico: Esterol

Los esteroides se mencionan como componentes.



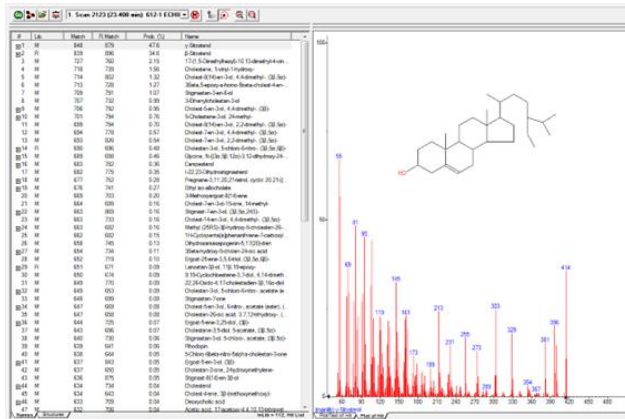
32. Nombre Común: Estigmasterol

Nombre IUPAC: (3 β ,22E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol

Fórmula Molecular: C₂₉H₄₈O

Grupo Químico: Fitosterol

Los esteroides se mencionan como componentes.



Se detectaron compuestos que pertenecen a grupos químicos mencionados en la literatura, como ácidos grasos (araquidonato, DHA, EPA, palmítico, esteárico y linoleico - aunque estos últimos no se identificaron directamente, sus derivados sí), esteroides (colesterol, ergosterol, estigmasterol) y compuestos fenólicos (vitamina E). Algunos terpenoides (pineno y derivados) también fueron sugeridos por las estructuras identificadas.

Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) de extracto de *Echinacea purpurea* con diclorometano:

En el análisis se reveló la presencia de los siguientes cuatro compuestos detectables:

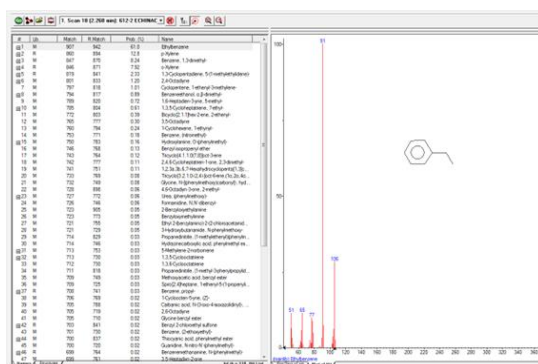
1. Nombre Común: Etilbenceno

Nombre IUPAC: Etilbenceno

Fórmula Molecular: C₈H₁₀

Grupo Químico: Hidrocarburo aromático

El etilbenceno es un hidrocarburo aromático simple, los hidrocarburos aromáticos simples no se mencionan como componentes principales.



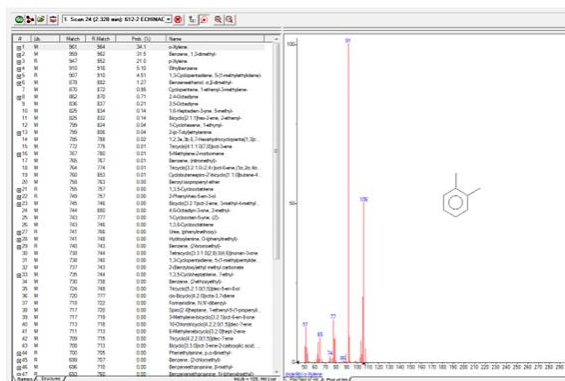
2. Nombre Común: Cumeno (Isopropilbenceno)

Nombre IUPAC: Isopropilbenceno

Fórmula Molecular: C₉H₁₂

Grupo Químico: Hidrocarburo aromático

El cumeno es otro hidrocarburo aromático, su detección sugiere la capacidad del diclorometano para extraer compuestos con características de lipofilidad, no se menciona como un componente principal.



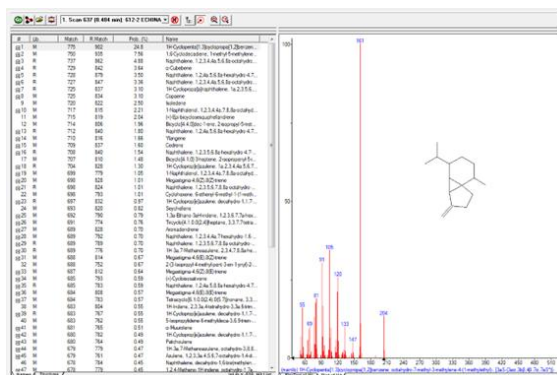
3. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: (1 α ,3 α ,6 α ,6 β)-7-metil-3-metileno-4-(propan-2-il)octahidrociclopenta[*a*]pentaleno

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₄

Grupo Químico: Hidrocarburo tricíclico

Este hidrocarburo tricíclico también fue identificado en el extracto metanólico, su presencia en ambos extractos sugiere una solubilidad moderada en solventes de diferente polaridad, no se menciona como un componente principal.



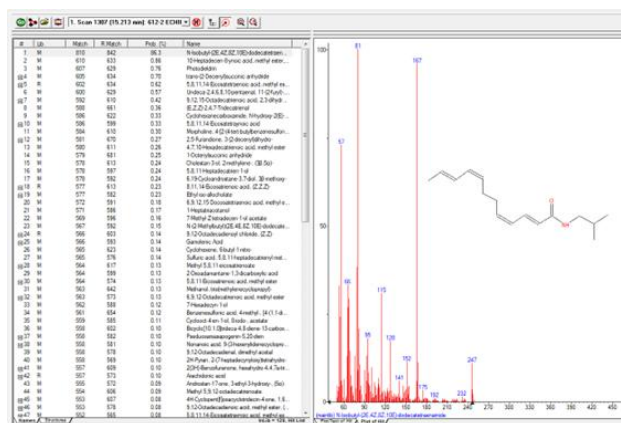
4. Nombre Común: No conocido

Nombre IUPAC: *N*-(2-metilpropil)(4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-docosahexaenamida

Fórmula Molecular: C₂₆H₄₁NO

Grupo Químico: Amida, Ácido graso poliinsaturado (derivado)

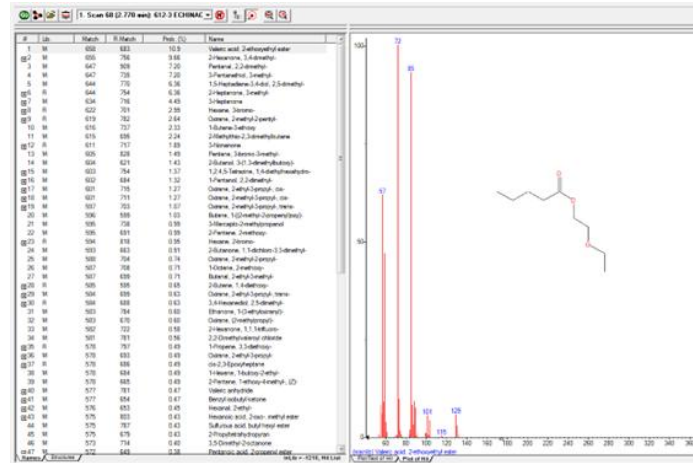
Esta amida derivada del DHA también se identificó en el extracto metanólico, su detección en el extracto de diclorometano indica que este compuesto, aunque funcionalizado con un grupo amida, posee suficiente lipofiliidad para ser extraído con este solvente. Los ácidos grasos se mencionan como componentes y el DHA es un ácido graso poliinsaturado, esta es una amida derivada, por lo que la conexión directa no es clara.



La identificación de estos cuatro compuestos en el extracto de *Echinacea purpurea* con diclorometano complementa los hallazgos obtenidos con la extracción metanólica. La presencia de hidrocarburos aromáticos como el etilbenceno y el cumeno sugiere la extracción de componentes menos polares. La detección del hidrocarburo tricíclico y la amida de DHA en ambos extractos indica una solubilidad que abarca un rango de polaridades.

Es importante considerar que la eficiencia de extracción de los diferentes metabolitos de *Echinacea purpurea* puede variar significativamente entre solventes como el metanol (polar prótico) y el diclorometano (polar aprótico de polaridad intermedia). Por lo tanto, el perfil químico obtenido con cada solvente representa una fracción específica de los compuestos presentes en la planta.

El butanoato de butilo, un éster de cadena corta, presenta una lipofilidad moderada que permite su extracción con hexano. Los lípidos y sus derivados (como ésteres de ácidos grasos) podrían estar presentes, pero los ésteres de ácidos carboxílicos de cadena corta no se mencionan específicamente como un grupo principal



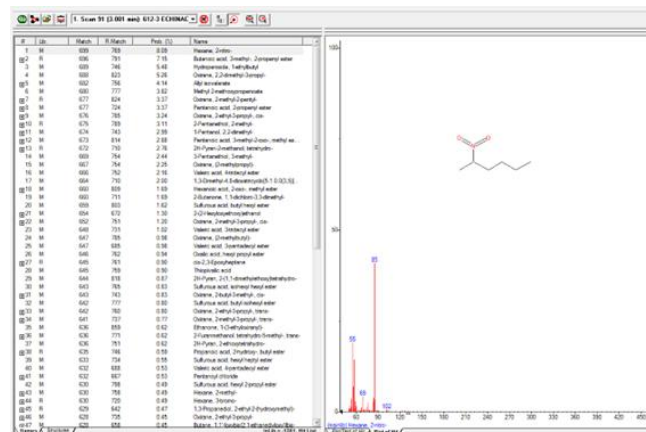
3. Nombre Común: Ácido butanoico, anhídrido (nombre no sistemático)

Nombre IUPAC: Anhídrido butanoico

Fórmula Molecular:

Grupo Químico: Anhídrido carboxílico

Los ácidos grasos se mencionan, pero los anhídridos de ácidos carboxílicos de cadena corta no se identifican como un grupo principal.



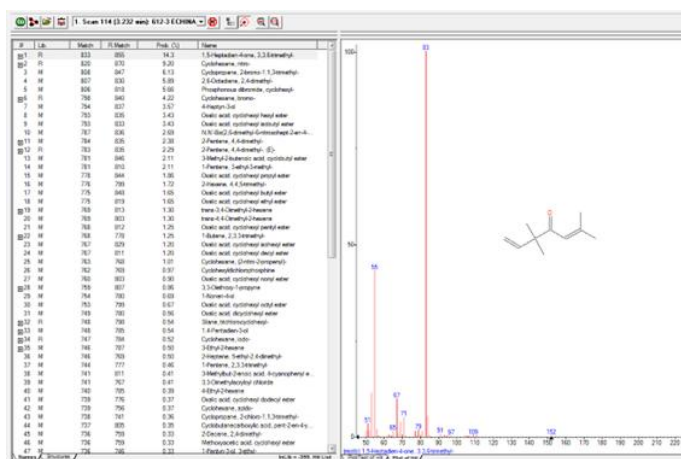
4. Nombre Común: Sulcatona

Nombre IUPAC: 6-metilhept-5-en-2-ona

Fórmula Molecular: $C_8H_{14}O$

Grupo Químico: Cetona insaturada, Terpenoide (monoterpenoide)

Los terpenoides, incluyendo monoterpenoides como este, son mencionados como componentes de *Echinacea purpurea*



El análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) del extracto de *Echinacea purpurea* utilizando tres solventes de diferente polaridad (metanol, diclorometano y hexano) reveló la presencia de una diversidad de compuestos químicos. Al comparar estos hallazgos con la literatura existente sobre la composición de *Echinacea purpurea*, se pueden identificar metabolitos que concuerdan con los grupos esperados y aquellos que no, así como posibles razones para estas observaciones.

Metabolitos Encontrados:

La literatura sobre *Echinacea purpurea* destaca la presencia de alcaloides, flavonoides, polisacáridos, glicoproteínas, ácidos fenólicos y terpenoides como principales grupos de metabolitos bioactivos

- Terpenoides: En el extracto de hexano se identificó 6-metilhept-5-en-2-ona, un monoterpenoide. La literatura menciona varios terpenoides como componentes de *Echinacea purpurea* (β -phellandreno, α -pineno, limoneno, camfeno, ocimeno y

terpineno), aunque este compuesto específico no se lista directamente. Su presencia sugiere que solventes no polares como el hexano son capaces de extraer ciertos terpenoides de la planta.

- **Esteroles:** En el extracto metanólico se identificaron colesterol, ergosterol y estigmasterol. La literatura menciona la presencia de esteroles en *Echinacea purpurea*, contribuyendo a la estructura de las membranas celulares vegetales. La identificación de estos esteroles, que tienen una polaridad moderada, en el extracto metanólico es consistente con la capacidad de este solvente para extraer una amplia gama de compuestos.
- **Ácidos Grasos (Derivados):** En los extractos metanólico y de diclorometano se identificaron derivados de ácidos grasos poliinsaturados, como el metil araquidonato y la amida derivada del ácido docosahexaenoico (DHA). La literatura menciona la presencia de ácidos grasos como el linoleico, palmítico y esteárico. Si bien no se identificaron directamente estos ácidos, la presencia de sus derivados (éster metílico y amida) sugiere la extracción de lípidos con los solventes utilizados.

Metabolitos No Encontrados o con Identificación Indirecta:

Varios grupos de metabolitos mencionados en la literatura no fueron directamente identificados en este análisis por GC-MS:

- **Alcaloides:** Los alcaloides pirrolizidínicos (tussilagina e isotussilagina) no se identificaron, esto podría deberse a que estos compuestos no son eficientemente extraídos con los solventes utilizados o a que no son volátiles o térmicamente estables bajo las condiciones del GC-MS.
- **Flavonoides y Ácidos Fenólicos (Derivados del Ácido Cafeico):** Compuestos importantes como el ácido chicórico, ácido cafeico, quercetina y kaempferol no se identificaron directamente mediante cromatografía de gases, pero si mediante cromatografía TLC, estos compuestos son generalmente más polares y menos volátiles,

lo que dificulta su análisis directo por GC-MS sin derivatización.

- Polisacáridos y Glicoproteínas: Estos son polímeros de alto peso molecular y baja volatilidad

Compuestos No Relacionados Directamente con los Metabolitos Conocidos de *Echinacea Purpurea*:

Se identificaron varios compuestos que no se mencionan directamente como metabolitos principales de *Echinacea purpurea* en la literatura revisada, incluyen hidrocarburos aromáticos (etilbenceno, cumeno), ésteres y anhídridos de ácidos carboxílicos de cadena corta (butanoato de butilo, anhídrido butanoico) y otros compuestos orgánicos diversos. La presencia de algunos de estos compuestos podría deberse a:

- Compuestos minoritarios presentes en la planta: La *Echinacea purpurea* es una matriz compleja y puede contener una amplia gama de compuestos en bajas concentraciones que no se mencionan como principales.
- Productos de degradación o artefactos: Algunos compuestos podrían ser productos de la degradación de metabolitos más grandes durante la extracción o el análisis térmico en el GC.
- Contaminantes: La presencia de compuestos como la anfetamina, el acetilfentanilo y el clordano sugiere la posibilidad de contaminación en alguna etapa del proceso.
- Identificaciones no concluyentes: La identificación se basa en la comparación espectral con bases de datos y algunas coincidencias pueden no ser definitivas.

Tabla 6. Resumen de metabolitos encontrados

Compuesto Identificado	Solvente de Extracción	Grupo Químico literatura	Relación con los grupos de <i>Echinacea</i> según la literatura
2,2,6,6-tetrametilbicyclo[3.1.1]heptan-3-ol	Metanol	Alcohol bicíclico, Terpenoide	Terpenoide
2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-ol	Metanol	Alcohol bicíclico, Terpenoide	Terpenoides

Metil araquidonato	Metanol	Éster, Ácido graso poliinsaturado	Ácidos grasos
Ácido (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoico	Metanol	Ácido graso poliinsaturado (omega-3)	Ácidos grasos
(3β)-colest-5-en-3-ol	Metanol	Esterol	Esteroles
N-(2-metilpropil)(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosahexaenamida	Metanol, Diclorometano	Amida, Ácido graso poliinsaturado (derivado)	Ácidos grasos
Etil (3α,5β,6β,7α,12α)-3,6,7,12-tetrahidroxicolanato	Metanol	Éster esteroide, Ácido biliar (derivado)	Esteroides
Ácido (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenoico	Metanol	Ácido graso poliinsaturado (omega-3)	Ácidos grasos
(2R,4'R,8'R)-5,7,8-trimetil-2-[(4',8',12'-trimetiltridecil)]cromano-6-ol	Metanol	Tocoferol, Cromano, Fenol	Compuestos fenólicos
(derivado policíclico complejo con ésteres, alcoholes, cetona, epóxido)	Metanol	Éster, Alcohol, Cetona, Epóxido, Polifenol (posible)	Polifenol
(3β,22E)-ergosta-5,7,22-trien-3-ol	Metanol	Esterol	Esteroles
(3β,22E)-estigmasta-5,22-dien-3-ol	Metanol	Esterol	Esteroles
Butanoato de butilo	Hexano	Éster carboxílico	Lípidos/ésteres
Anhídrido butanoico	Hexano	Anhídrido carboxílico	Ácidos grasos
6-metilhept-5-en-2-ona	Hexano	Cetona insaturada, Terpenoide	Terpenoides

Fuente: Elaboración propia basada en los datos encontrados.

Desarrollo de la formulación.

El proceso de desarrollo de la formulación comenzó con la preparación del extracto de *Echinacea purpurea*, para obtener el extracto, las raíces y hojas de la planta se sometieron a un proceso de infusión. Las plantas secas se colocaron en agua y se llevaron a ebullición durante varios minutos. Este proceso de ebullición permitió la extracción de los compuestos bioactivos presentes en las partes vegetales de la planta. Posteriormente, la infusión se retiró del calentamiento y se dejó reposar hasta que alcanzó la temperatura ambiente.

Una vez que la infusión se enfrió, se procedió a liofilizar el extracto durante una semana, un proceso que permitió la eliminación del agua y la conservación de los metabolitos bioactivos de la *Echinacea purpurea* en su forma más concentrada. Este paso es fundamental para garantizar la estabilidad de los compuestos activos y facilitar su integración en la formulación final, la imagen del liofilizado se encuentra a continuación:



Figura 9. Extracto de Echinacea liofilizado. **Fuente:** Elaboración propia

La elección de realizar el liofilizado se basa en que se puede preservar la muestra realizada y que se puede con certeza saber la cantidad de extracto que se coloca en la formulación, ya que

se podrá dar en peso la cantidad agregada del extracto. Para la formulación el primer paso que se realizó fue la determinación de la forma farmacéutica más adecuada para la administración del producto a los caninos. Se optó por una formulación en gel, específicamente una solución líquida con la consistencia de un gel, debido a la facilidad de administración que proporciona este formato. La consistencia gelatinosa facilita la incorporación de la dosis adecuada de *Echinacea purpurea* de manera sencilla, sin causar dificultades en su ingestión por los caninos, y lo más importante, la forma farmacéutica seleccionada no impide la liberación o absorción de los principios activos de la planta.

La dosis establecida fue de 1,0 g de *Echinacea purpurea* por cada 10 kg de peso corporal del animal, administrada una vez al día. La formulación fue diseñada para ser incorporada en un alimento húmedo para perros adultos, que serviría como vehículo para hacer la administración más atractiva. La adición del alimento húmedo proporciona un delicioso olor y sabor, lo cual estimula la aceptación del producto por parte del perro, facilitando así la ingesta de la dosis de *Echinacea purpurea* sin complicaciones (López Silva Santiesteban, 2018).

Gel de *Echinacea Purpurea*

El desarrollo de la formulación fue cuidadosamente diseñado para garantizar la máxima efectividad y aceptación por parte de los caninos. Se seleccionó la forma farmacéutica en gel bebible debido a su rápida absorción y distribución en el organismo del perro, esta forma farmacéutica se caracteriza por ser más agradable para la administración en comparación con otras formas, lo que facilita la ingesta del tratamiento sin causar molestias al animal.

Se evaluaron diversas alternativas de formulaciones para la administración oral del extracto de *Echinacea purpurea*, pero se optó finalmente por una formulación en gel debido a sus varias ventajas en términos de administración, estabilidad y aceptación por parte de los caninos.

El gel se eligió porque, al tener una consistencia similar a la de los alimentos húmedos, resulta más fácil de administrar en comparación con otras formas farmacéuticas como las tabletas o cápsulas, las cuales pueden ser más difíciles de tragar para los animales. La

formulación en gel también tiene la ventaja de que puede mezclarse con el alimento húmedo, lo que facilita su aceptación sin requerir que el perro ingiera una sustancia extraña. Esta forma farmacéutica permite una liberación controlada del principio activo y puede ser dosificada con precisión, asegurando que el animal reciba la cantidad exacta de *Echinacea purpurea*.

Selección de excipientes.

La elección de los excipientes fue un paso crucial en el desarrollo de la formulación. Se seleccionaron excipientes que garantizarán no solo la estabilidad del gel, sino también su seguridad y eficacia para los perros.

Se utilizaron preservantes y estabilizantes como el benzoato de sodio, que ayuda a prevenir el crecimiento microbiano y asegura la conservación del producto durante su vida útil. Además, se utilizó ácido cítrico como estabilizante para mantener la integridad del producto y evitar la degradación de los compuestos activos.

Se probaron diferentes tipos de agentes gelificantes como el carbómero, la CMC (carboximetilcelulosa), la metilcelulosa y la celulosa, pero la formulación final se basó en la CMC. Este excipiente fue elegido debido a su capacidad para formar un gel estable con una buena consistencia, lo cual proporcionó la textura adecuada para la administración en forma líquida. Además, la CMC es un excipiente seguro para el uso en animales y no presenta riesgos para la salud de los caninos.

La gelatina y la pectina fueron seleccionadas por sus propiedades gelificantes y su capacidad para dar una consistencia más viscosa a la formulación. Estos excipientes también contribuyen a mejorar la aceptación del producto, ya que tienen una textura que facilita su ingestión.

Para garantizar que los caninos aceptaran la formulación, se eligió un alimento húmedo como saborizante, el cual fue licuado con 50 ml de agua y colado para asegurar que estuviera libre de impurezas. El alimento húmedo no solo proporciona un sabor y olor agradables para los

perros, sino que también ayuda a mejorar la palatabilidad general de la formulación, haciendo que la administración sea más atractiva para los animales.

El agua fue utilizada como excipiente principal para disolver y diseminar todos los ingredientes y su cantidad fue ajustada para obtener la viscosidad y consistencia deseadas para la formulación final.

Para el desarrollo de la formulación definitiva, se elaboraron tres versiones de prueba con el objetivo de evaluar su aceptabilidad y adecuación en términos de textura, estabilidad y facilidad de administración, ninguna de las formulaciones alcanzó la viscosidad ideal que se buscaba, sin embargo, el análisis sensorial y físico permitió identificar ventajas y limitaciones de cada una, la primera formulación tuvo una mejor consistencia, aunque presentó limitaciones, la segunda y tercera formulación resultaron ser demasiado líquidas.

Aunque ninguna de las pruebas logró una viscosidad completamente satisfactoria, este proceso permitió seleccionar la opción que mejor se adaptaba a los criterios establecidos y que presentaba un mayor potencial de optimización en la reformulación.

Tabla 7. Formulaciones de prueba

Pruebas	1	2	3
Carbómero	CMC 3%	Metilcelulosa 1,5%	Celulosa 3%
Preservante	Benzoato de sodio 0,05%	Benzoato de sodio 0,05%	Metilparabeno 0,15% Propilparabeno 0,05%
Acidulante	Ácido cítrico 1%	Ácido cítrico 1%	-
Humectante	Propilenglicol 7%	Propilenglicol 7%	Glicerina 10%
Saborizante	Alimento Húmedo 20%	Alimento Húmedo 20%	Alimento Húmedo 20%

Agua	81%	65,5%	62%
Extracto liofilizado	5%	5%	5%
Total:	100	100	100

Después de realizar pruebas con varias combinaciones de estos excipientes, se determinó que la mezcla de CMC, benzoato de sodio, gelatina, pectina, glicerina, extracto liofilizado de *Echinacea purpurea*, saborizante (alimento húmedo) y agua proporcionó la mejor consistencia, visibilidad y aceptabilidad para los perros, lo cual la hizo la opción más adecuada para la formulación final.

Esta combinación permitió obtener un producto con una viscosidad más homogénea, estable en el tiempo y con mejores características organolépticas, esto facilitó su aceptación y cumplió con los criterios establecidos para la formulación final.

Tabla 8. Formulación

Formulación	
Sustancias	Porcentajes
CMC	5
Benzoato de sodio	0,05
Gelatina	2
Pectina	2
Glicerina	5
Extracto	1,0
Saborizante	20
Agua	65
Total	100

Fuente: Elaboración propia basada en los datos encontrados

CAPÍTULO V - CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se logró diseñar exitosamente una formulación oral a base de extracto liofilizado de *Echinacea purpurea*, que pueda funcionar con un coadyuvante en el manejo de patologías caninas, se observa que el producto contiene con propiedades adecuadas de estabilidad, cumpliendo con el objetivo de desarrollar una alternativa natural para la prevención de la traqueobronquitis infecciosa en perros.
- La caracterización fitoquímica del extracto permitió identificar compuestos bioactivos como polisacáridos, flavonoides, ácidos fenólicos y terpenos, con propiedades inmunoestimulantes y antiinflamatorias, lo cual valida su aplicación terapéutica según lo propuesto en los objetivos.
- Entre los compuestos que se detectaron por cromatografía TLC se pudieron asociar principalmente 2, los cuales fueron ácido caftárico y ácido chicórico, los cuales presentan altas propiedades antivirales, esta determinación se pudo complementar con la técnica de IR.
- Se identificaron los principales factores etiológicos, ambientales y epidemiológicos relacionados con la traqueobronquitis infecciosa canina, lo que permitió comprender la relevancia de una estrategia profiláctica enfocada en ambientes de alta densidad poblacional, lo cual es muy importante para dar prevención a un posible brote de la enfermedad.
- Se logró caracterizar el extracto realizado de tallos, hojas y raíces de la *Echinacea purpurea*, obteniendo un número cercano de 30 compuestos detectados de los cuales hacen falta tener los compuestos en su forma pura para poder hacer la comparación mediante técnicas cromatográficas.
- La formulación propuesta se plantea como una solución innovadora y complementaria a las medidas existentes, representando una alternativa segura y bien tolerada frente al uso prolongado de antibióticos, contribuyendo así al bienestar animal y a una práctica veterinaria más sustentable.
- Se confirma la hipótesis planteada, al demostrarse que el extracto de *Echinacea purpurea* posee las propiedades necesarias para ser utilizado como coadyuvante en la

profilaxis de la traqueobronquitis infecciosa, fortaleciendo el sistema inmunológico de los caninos y disminuyendo su susceptibilidad a la enfermedad.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda al ámbito veterinario y a los centros de bienestar animal considerar la implementación de formulaciones naturales a base de *Echinacea purpurea* como complemento profiláctico en poblaciones caninas vulnerables, especialmente en criaderos, refugios y centros de adopción.
- Al Departamento de Farmacognosia y Farmacotecnia se sugiere continuar con estudios sobre la estandarización del extracto de *Echinacea purpurea*, asegurando la reproducibilidad de los compuestos bioactivos con actividad inmunomoduladora.
- Se recomienda al área de Farmacia Veterinaria desarrollar ensayos clínicos controlados en campo, con el fin de evaluar la eficacia y tolerancia de la formulación en condiciones reales y ampliar su potencial de uso terapéutico.
- A las autoridades de control sanitario se les sugiere establecer lineamientos para la evaluación y registro de productos fitoterapéuticos veterinarios, asegurando calidad, seguridad y efectividad en su aplicación.
- Se sugiere a futuros investigadores explorar nuevas formas farmacéuticas y vías de administración de *Echinacea purpurea*, como aerosoles o formulaciones tópicas, que puedan ampliar su aplicabilidad en patologías respiratorias.
- Se recomienda evaluar la capacidad antioxidante y la capacidad inhibitoria microbiana, esto mediante estudios in vitro de la formulación frente a agentes patógenos asociados a la enfermedad, determinando su actividad antimicrobiana y su capacidad antioxidante, para poder comprobar el efecto de la formulación contra los agentes diana.

REFERENCIAS

- Ahmadi, F. (2024). Phytochemistry, Mechanisms, and Preclinical Studies of Echinacea Extracts in Modulating Immune Responses to Bacterial and Viral Infections: A Comprehensive Review. *Antibiotics*, 13(10), 947. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13100947>
- Agromédica, H. V. (2022, November 3). *Tos de las perreras o Traqueobronquitis infecciosa canina*. Hospital Veterinario Agromédica. <https://hospitalveterinario.cr/tos-de-las-perreras-o-traqueobronquitis-infecciosa-canina/>
- Ardjomand-Woelkart, K., & Bauer, R. (2015b). Review and assessment of medicinal safety data of orally used echinacea preparations. *Planta Medica*, 82(01/02), 17–31. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1558096>
- Bauer, R. (2019). Echinacea: Biological effects and active principles. *Planta Medica*, 85(8), 653-664. <https://doi.org/10.1055/a-0895-9383>
- Berdonces, J. L. (2015). *Como cura la equinácea: La planta que potencia tu inmunidad*. Integral. https://www.google.co.cr/books/edition/Como_cura_la_equin%C3%A1cea/vz_ODwAAQBAJ?hl=es&gbpv=0
- Bosques-Padilla, F. J., & Corral-Guerrero, L. C. (2013, July 1). *Efectividad vs. eficacia: ¿es tiempo de cambiar nuestra forma de pensar?* Medicina Universitaria. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-universitaria-304-articulo-efectividad-vs-eficacia-es-tiempo-X1665579613496082>
- Brizuela Elizondo, M., & Rodríguez Bolaños, D. (2017, April). Uso de Immunol® jarabe, como coadyuvante en el manejo de traqueobronquitis infecciosa canina, en un grupo de 10 individuos en la provincia de San José, Costa Rica. *Himalaya*.
- Burgos Mayorga, A., Lopez, N., & Cepeda Ortiz, G. (2022). Determinación serológica de adenovirus canino tipo 2 (CAV-2) en un refugio canino de Quito. *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*, 7(2), 107–119. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7261779>
- Burlou-Nagy, C., Bánic, F., Jurca, T., Graiela Vica, L., Eleonora Marian, Muresan, M. E., Bácskay, I., Kiss, R., Fehér, P., & Pallag, A. (2022). Echinacea purpurea (L.) Moench: Biological and Pharmacological Properties. A Review. *Feature Review Papers in Phytochemistry*, 11(9), 1244. <https://doi.org/10.3390/plants11091244>

- Campos Mondragón, M. G. (2019). SOXHLET, DEL INVENTOR AL MÉTODO. *Saber más, Revista de Divulgación*, 244(29), 450. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/244-numero-29/450-soxhlet-del-inventor-al-metodo.html&ved=2ahUKEwjV8eC2s6SMAxXFRjABHWkIPEQFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw23ITTE7INPv8i15h3EG9-X>
- Capasso, F., Pasquale, R. d., & Grandolini, G. (2011). *Farmacognosia: Botanica, chimica e farmacologia delle piante medicinali* (F. Capasso, Ed.). Springer Milan. https://www.google.co.cr/books/edition/Farmacognosia/qn5zb3_rqZIC?hl=es&gbpv=0
- Chicca, A., Raduner, S., Pellati, F., Strompen, T., Altmann, K., Schoop, R., & Gertsch, J. (2009). Synergistic immunopharmacological effects of N-alkylamides in *Echinacea purpurea* herbal extracts. *International Immunopharmacology*, 9(7–8), 850–858. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.03.006>
- Coelho, J., Barros, L., Dias, M. I., Finimundy, T. C., Amaral, J. S., Alves, M. J., Calhella, R. C., Santos, P., & Ferreira, I. C.F.R.I. C.F.R. (2020). *Echinacea purpurea* (L.) Moench: Chemical Characterization and Bioactivity of Its Extracts and Fractions. *Anticancer Compounds in Medicinal Plants*, 13(6), 125. <https://doi.org/10.3390/ph13060125>
- Day, M. J., Carey, S., Clercx, C., Kohn, B., Marsillo, F., Thiry, E., Freyburger, L., Schulz, B., & Walker, D. J. (2020). Aetiology of Canine Infectious Respiratory Disease Complex and Prevalence of its Pathogens in Europe. *Journal of comparative pathology*, 176, 86–108. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.02.005>
- Del Rocío Perejón-Rubio, I., & García-Gimenez, M. D. (2021). Plantas medicinales que actúan sobre el sistema inmune. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 63(1), 92–105. <https://doi.org/10.30827/ars.v63i1.22187>
- Dosoky, N. S., Kirpotina, L. N., Schepetkin, I. A., Khlebnikov, A. I., Lisonbee, B. L., Black, J. L., Woolf, H., Thurgood, T. L., Graf, B. L., Satyal, P., & Quinn, M. T. (2023). Volatile Composition, Antimicrobial Activity, and In Vitro Innate Immunomodulatory Activity of *Echinacea purpurea* (L.) Moench Essential Oils. *MDPI*, 28(21), 7330. <https://doi.org/10.3390/molecules28217330>

- Fahey, G. C. J., Elizabeth A, F., & Grieshop, C. M. (2002). Oral Administration of Arabinogalactan Affects Immune Status and Fecal Microbial Populations in Dogs. *The Journal of Nutrition*, 132(3), 478-482. <https://doi.org/10.1093/jn/132.3.478>
- Fidalgo Álvarez, L. E. (Ed.). (2003). *Patología Médica Veterinaria: Libro de Texto para la Docencia de la Asignatura*. Universidad de Santiago de Compostela. https://www.google.co.cr/books/edition/Patolog%C3%ADa_M%C3%A9dica_Veterinaria/GCkvIaAT1WYC?hl=es&gbpv=0
- Flores, L. (2023). *Detección molecular de Bordetella bronchiseptica en Canis familiaris, urbanización Andrés Araujo Morán, Tumbes- 2022*. Repositorio Untumbes. Retrieved June 28, 2024, from <https://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/63983>
- Ford, R. B. (2017). Canine infectious respiratory disease complex: Understanding and managing "kennel cough". *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4), 517-530. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.02.005>
- Fusco, D., Liu, X., Savage, C., Taur, Y., Xiao, W., Kennelly, E., Yuan, J., Cassileth, B., Salvatore, M., & Papanicolaou, G. A. (2010). Echinacea purpurea aerial extract alters course of influenza infection in mice. *Vaccine*, 28(23), 3956–3962. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.03.047>
- Gertsch, J., Schoop, R., Kuenzle, U., & Suter, A. (2018). Echinacea alkylamides modulate human CB2 receptor activity: A link to their immunomodulatory properties. *The Journal of Immunology*, 181(9), 5575-5583. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.9.5575>
- Goel, V., Chang, C., Slama, J. V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R., & Basu, T. K. (2002). Alkylamides of Echinacea purpurea stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *International Immunopharmacology*, 2(2–3), 381–387. [https://doi.org/10.1016/s1567-5769\(01\)00163-1](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(01)00163-1)
- Grimm MD, W., & Máller PhD, H.-H. (1999). A randomized controlled trial of the effect of fluid extract of Echinacea purpurea on the incidence and severity of colds and respiratory infections. *The American Journal of Medicine*, 106(2), 138-143. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(98\)00406-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(98)00406-9)

- Gutiérrez M., A., & Peralta A, J. (2022). *FISIOPATOLOGIA DE Bordetella bronchiseptica Y DEL VIRUS DE PARAINFLUENZA CANINA EN LA TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA CANINA*. Universidad Cooperativa de Colombia.
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://repository.ucc.edu.co/bitstreams/7443f351-f227-4c3f-97ff-acb8a2beaab4/download&ved=2ahUKEwi4hf6kraSMAxUrSDABHQSYGAcQFnoECkQAQ&usg=AOvVaw1rrGJpichw-qK0rN320KY6>
- H. Sala, H. J. Engels, & M. M. Fahlman. (2007). Echinacea Purpurea and Mucosal Immunity. *International Journal of Sports Medicine*, 28(9), 792-797. 10.1055/s-2007-964895
- Hernández, M. B. (2021). *¿Por qué es tan importante hablar de la tos de las perreras?* Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8053552>
- J. Reichamiento, J. Frst-Jucker, S. Bucher, & R. Saller. (2003). Echinacea powder: Treatment for canine chronic and seasonal upper respiratory tract infections.145(5). <https://econtent.hogrefe.com/doi/abs/10.1024/0036-7281.145.5.223>
- Jawad, M. S. M., Schoop, R., Suter, A., Klein, P. D., & Eccles, R. (2012). Safety and Efficacy Profile of Echinacea purpurea to Prevent Common Cold Episodes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2012/841315>
- Jabłońska-Trypuć, A., Wydro, U., Wołejko, E., Świdorski, G., & Lewandowski, W. (2020). Biological Activity of New Cichoric Acid-Metal Complexes in Bacterial Strains, Yeast-Like Fungi, and Human Cell Cultures In Vitro. *Nutrients*, 12(1), 154. <https://doi.org/10.3390/nu12010154>
- Jordana Llucha, E., Martró Catalàa, E., & Ausina Ruiza, V. (2012). La espectrometría de masas en el laboratorio de microbiología clínica. *Revista enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 30(10), 635-644. 10.1016/j.eimc.2012.01.012
- Karg, C. A., Wang, P., Moser, S., & Vollmar, A. M. (2019). Characterization of phylloxanthobilins as a novel anti-oxidative compound class in Echinacea purpurea. *Phytomedicine*, 60, 152969. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152969>

- Karsch-Völk, M., Barrett, B., Kiefer, D., Bauer, R., Ardjomand-Woelkart, K., & Linde, K. (2014). Echinacea for preventing and treating the common cold. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2014(2), CD000530. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000530.pub3>
- Kumar, K., & Ramaiah, S. (2011). Pharmacological importance of Echinacea purpurea. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(4), 304-314. <https://www.academia.edu/download/52753132/echinacea.pdf>
- Kuznetsova, T. A., Makarenkova, I. D., & Kryzhanovskii, S. P. (2020). Echinacea extracts in veterinary medicine: Application and prospects. *Veterinary World*, 13(6), 1021-1027. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1021-1027>
- Lavan, R., & Knesl, O. (2015). Prevalence of canine infectious respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. *Journal of Small Animal Practice*, 56(9), 572–576. <https://doi.org/10.1111/jsap.12389>
- Lee, S. K., Lee, D. R., Min, D. E., Park, S. H., Kim, D. G., Kim, E. J., Choi, B. K., & Kwon, K. B. (2024). Ethanolic Extract from *Echinacea purpurea* (L.) Moench Inhibits Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus Infection *in vitro*: Preventive Agent for Viral Respiratory Infections. *Preventive nutrition and food science*, 29(3), 332–344. <https://doi.org/10.3746/pnf.2024.29.3.332>
- Loaiza, J., Valverde, R., Rodríguez, G., & Molina, J. (2004). Análisis cuantitativos de los principales constituyentes químicos de raíces de Echinacea purpurea y E. Angustifolia producidas en Costa Rica I. *Agronomía Costarricense*, 28(2), 53-59.
- Lopez Silva Santiesteban, C. N. (2018). “MANEJO DE LA TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA CANINA. <https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/20.500.13028/3968/1/Manejo%20de%20la%20traqueobronquitis%20infecciosa%20canina.pdf>
- Manayi, A., Vazirian, M., & Saeidnia, S. (2015). Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Phytotherapy Research*, 29(10), 1493-1510. <https://doi.org/10.1002/ptr.5413>
- Marenco, D. A., Daza, J. A., Trujillo, M. C., Cuello, J. D., & Plata, E. E. (2012). Espectroscopia infrarroja: una técnica alternativa para la identificación de

microorganismos. *Ciencia Y Salud Virtual*, 4(1), 123.
<https://doi.org/10.22519/21455333.254>

- Marth E, Woelkart K, Suter A, Schoop R, Raggam R, Koidl C, Kleinhappl B, & Bauer R. (2006). Bioavailability and pharmacokinetics of Echinacea purpurea preparations and their interaction with the immune system. *International Journal of Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 44(9), 401.
<https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aagcd%3A14%3A2890782/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aagcd%3A22421769&crl=c>
- Mattace Raso, G., Maria Pacilio, Di Carlo, G., Esposito, E., Pinto, L., & Meli, R. (2002). In-vivo and in-vitro anti-inflammatory effect of Echinacea purpurea and Hypericum perforatum. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(10), 1379-1383.
<https://doi.org/10.1211/00223570274345464>
- Mauro, L. D. (2006). Manejo de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) “Tos de las Perreras”. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 7(2), 1-9.
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020206.html>
- Mena, M. (2023, November 24). Autoridades nacionales alertan por extraña enfermedad respiratoria en perros que está afectando en Estados Unidos. *El Observador CR*.
<https://observador.cr/autoridades-nacionales-alertan-por-extrana-enfermedad-respiratoria-en-perros-que-esta-afectando-en-estados-unidos/>
- Minimol. (n.d.). *Traqueobronquitis canina o “tos de las perreras” - Servicios Veterinarios en Toledo*. <https://www.dobican.com/patologias/12/1/traqueobronquitis-canina-o-tos-de-las-perreras.html>
- Mishima, S., Saito, K., Maruyama, H., Inoue, M., Yamashita, T., Ishida, T., & Gu, Y. (2004). Antioxidant and Immuno-Enhancing Effects of Echinacea purpurea. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27(7), 1004–1009. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1004>
- Mistríková, I., & Vaverková, Š. (2007). Morphology and anatomy of Echinacea purpurea, E. angustifolia, E. pallida and Parthenium integrifolium. *Biologia*, 62(1), 2-5.
<https://doi.org/10.2478/s11756-007-0006-7>
- Morales, C. O. (2020). Origin, natural history, and uses of introduced plants in Costa Rica . *UNED Research Journal*, 12(2). <https://doi.org/10.22458/urj.v12i2.3098>

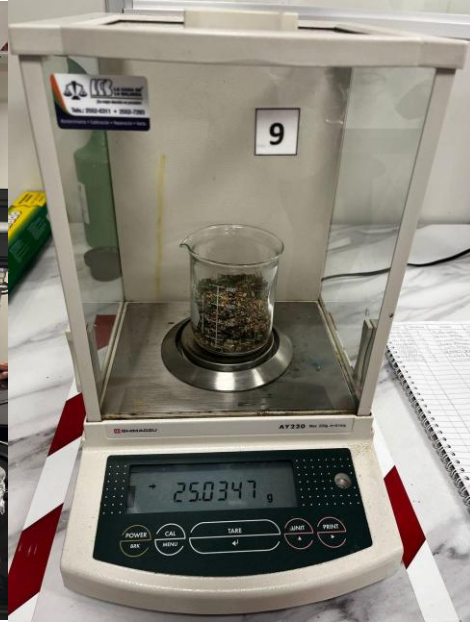
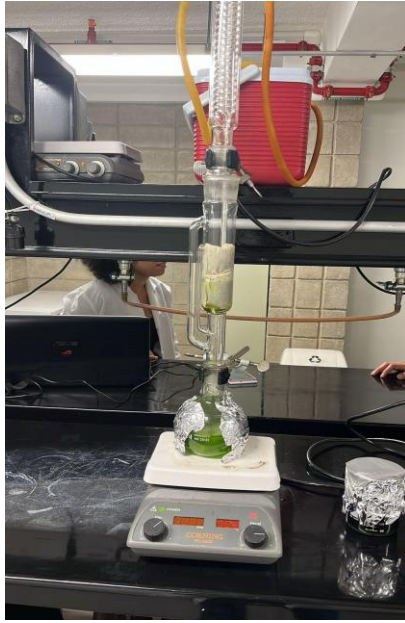
- Mrozikiewicz, P., Bogacz, A., Karasiewicz, M., Mikołajczak, P., Ozarowski, M., Seremak-Mrozikiewicz, A., Czerny, B., Bobkiewicz-Kozłowska, T., & Grzeskowiak, E. (2010). The effect of standardized *Echinacea purpurea* extract on rat cytochrome P450 expression level. *Phytomedicine*, 17(10), 830–833. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.02.007>
- N. Maass, J. Bauer, B. R. Paulicks, B. M. Bhmer, & D. A. Roth-Maier. (2005). Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. *Journal of Animals Physiology and Animal Nutrition*, 89(7-8), 244-252. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00501.x>
- Ned F., K. (2018). *Traqueobronquitis (bronquitis) en los perros*. Manual de veterinaria de MSD. <https://www.msdevetmanual.com/es/propietarios-de-perros/trastornos-pulmonares-y-de-las-vias-respiratorias-de-los-perros/traqueobronquitis-bronquitis-en-los-perros>
- Oliveira, B. G. de ., Santos, L. F. F., Costa, M. C. da ., Bastos, R. W., Carmo, P. H. F. do ., Santos, D. de A., Pianetti, G. A., & César, I. C.. (2022). Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of Dried Extracts of *Echinacea Purpurea*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e21026. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e21026>
- Pérez-Alonso N, Jiménez E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*, 11(4):195-211.
- Perry, N., Van Klink, J., Burgess, E., & Parmenter, G. (1997). Alkamide Levels in *Echinacea purpurea*: A Rapid Analytical Method Revealing Differences among Roots, Rhizomes, Stems, Leaves and Flowers. *Planta Medica*, 63(01), 58–62. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957605>
- Quesada Espinoza, J., & Murillo Masís, R. (2019). Control de calidad de fitofármacos con la utilización de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la aplicación del análisis de componentes principales (PCA). *Tecnología en Marcha*, 32(4), 81-94. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v32i4.4794>
- Roesler, J., Emmendúrffer, A., Steinmoller, C., Luettig, B., Wagner, H., & Lohmann Matthes, M. L. (1991). Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to test subjects mediates activation of the phagocyte system.

International Journal of Immunopharmacology, 13(7), 931-941.
[https://doi.org/10.1016/0192-0561\(91\)90046-A](https://doi.org/10.1016/0192-0561(91)90046-A)

- Santévet, E., & SantéVet. (2024, October 7). Tos de las perreras: ¿en qué consiste esta enfermedad respir | SantéVet. *SantéVet*. <https://www.santevet.es/articulo/la-tos-de-las-perreras-en-los-perros>
- Schulz, B. S., Kurz, S., Weber, K., Balzer, H. J., & Hartmann, K. (2014). Detection of respiratory viruses and *Bordetella bronchiseptica* in dogs with acute respiratory tract infections. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 201(3), 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.019>
- Shah, S. A., Sander, S., White, C. M., Rinaldi, M., & Coleman, C. I. (2007). Evaluation of echinacea for the prevention and treatment of the common cold: a meta-analysis. *Lancet. Infectious Diseases/the Lancet. Infectious Diseases*, 7(7), 473–480. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(07\)70160-3](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(07)70160-3)
- Shang, Q., Gao, W., Zhang, X. *et al.* Investigation of the epidemiology, pathogenicity and immunogenicity of *Bordetella bronchiseptica* isolated from cats and dogs in China from 2021 to 2023. *Animal Diseases* 4, 16 (2024). <https://doi.org/10.1186/s44149-024-00120-3>
- Shilpa, K, Varun K, Lakshmi BS (2010) An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cell culture. *J Plant Sci* 5:222-247.
- Sperber, S. J., Shah, L. P., Gilbert, R. D., Ritchey, T. W., & Monto, A. S. (2004). Echinacea purpurea for Prevention of Experimental Rhinovirus Colds. *Clinical Infectious Diseases/Clinical Infectious Diseases (Online. University of Chicago. Press)*, 38(10), 1367–1371. <https://doi.org/10.1086/386324>
- Stanisavljević, I., Stojičević, S., Veličković, D., Veljković, V., & Lazić, M. (2009). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 17(3), 478–483. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(08\)60234-7](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(08)60234-7)
- Świdorski, G., Gołębowska, E., Kalinowska, M., Świśłocka, R., Kowalczyk, N., Jabłońska-Trypuć, A., & Lewandowski, W. (2024). Comparison of Physicochemical, Antioxidant, and Cytotoxic Properties of Caffeic Acid Conjugates. *Materials*, 17(11), 2575. <https://doi.org/10.3390/ma17112575>

- Tsai, Y., Chiou, S., Chan, K., Sung, J., & Lin, S. (2012). Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of Echinacea purpurea flower extracts. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 46(1), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.026>
- Varela Mejía, V. D., Chavarro Herrera, L. N., Beleño Florez, K. J., & Rodríguez Romero, J. D. (2022). Traqueobronquitis infecciosa canina: revisión de tema. *CITECSA*, 13(22), 10–13. Recuperado a partir de <https://revistas.unipaz.edu.co/index.php/revcitecsa/article/view/277>
- Vieira, S. F., Gonçalves, V. M. F., Llaguno, C. P., Macías, F., Tiritan, M. E., Reis, R. L., Ferreira, H., & Neves, N. M. (2022). On the Bioactivity of Echinacea purpurea Extracts to Modulate the Production of Inflammatory Mediators. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13616. <https://doi.org/10.3390/ijms232113616>
- Vimalanathan, S., Kang, L., Amiguet, V. T., Livesey, J., Arnason, J. T., & Hudson, J. (2005). Echinacea purpurea. Aerial Parts Contain Multiple Antiviral Compounds. *Pharmaceutical Biology*, 43(9), 740–745. <https://doi.org/10.1080/13880200500406354>
- Waidyanatha, S., Pierfelice, J., Cristy, T., Mutlu, E., Burbach, B., Rider, C. V., & Ryan, K. (2020). A strategy for test article selection and phytochemical characterization of Echinacea purpurea extract for safety testing. *Food and Chemical Toxicology*, 137, 111125. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111125>
- Yu, D., Yuan, Y., Jiang, L., Tai, Y., Yang, X., Hu, F., & Xie, Z. (2013). Anti-inflammatory effects of essential oil in Echinacea purpurea L. *Pak J Pharm Sci*, 26(2), 403-408.
- Zamora Males, H. A., & Rojas, Y. A. (2023, Julio). *Actualización de las alternativas de tratamiento para la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC)*. *Medicina Veterinaria Zootecnia*. <https://hdl.handle.net/20.500.12494/52071>

CAPÍTULO VI - ANEXOS



CAPÍTULO VII - APÉNDICE

Carta para la solicitud de defensa de Trabajos Finales de Graduación Farmacia

San José, 20 de marzo del 2025

Señores:

Comité de Investigación de la Facultad de Farmacia

Universidad de Iberoamérica.

Estimados:

La presente carta es para solicitar ante la facultad la fecha para la defensa del proyecto final de graduación titulado como ***"DISEÑO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE EXTRACTOS DE ECHINACEA PURPUREA Y SU APLICACIÓN COMO COADYUVANTE EN LA PROFILAXIS DE LA TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA EN PERROS"***.

La defensa de este es para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia en el periodo ***primer*** cuatrimestre del **2025**.

Lo anterior debido a que se considera que el documento se encuentra listo y ha sido revisado por el tutor para su defensa.

Sin otro particular se despide:

Natalia Portuguez Marín

Nombre completo del (la) estudiante

1 1766 0723

Cédula

Melanie Morales Cerdas

Nombre completo del(la) estudiante

7 0302 0256

Cédula

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 09/05/2024	Aprobado por: M.sc. Melissa Martinez	Cargo: Docena Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	---	----------------------	--	---------------------------------------	---------------

Carta de declaración jurada en Proyectos Finales de Graduación Farmacia

El/la/los estudiantes NATALIA MELISSA PORTUGUEZ MARIN, mayor de edad, con número de cédula 1 1776 0723 y MELANIE MORALES CERDAS , mayor de edad, con número de cédula 7 0302 0256; se hace constar por medio de este acto que debidamente apercibo y doy por entendido las penas y consecuencias con las que se castiga en el Código Penal el delito de Perjurio, ante quienes se constituyen en el Tribunal Calificador del presente Trabajo Final de Investigación para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia, en San José, Tibás, juro solemnemente que el trabajo de investigación titulado "DISEÑO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE EXTRACTOS DE ECHINACEA PURPUREA Y SU APLICACIÓN COMO COADYUVANTE EN LA PROFILAXIS DE LA TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA EN PERROS", es una obra original e inédita cuya elaboración ha respetado todo lo preceptuado por las leyes penales, así como la Ley de Derecho de Autor y Derecho Conexos número 6683 del 14 de octubre de 1982 y sus reformas, publicada en la Gaceta número 226 del 25 de noviembre de 1982; incluyendo el numeral 70 de dicha ley que advierte; Artículo 70. Es permitido citar a un autor, transcribiendo los pasajes pertinentes siempre que estos no sean tantos y seguidos, que pueda considerarse como una producción simulada y sustancial que redunde en perjurio del autor de la obra original. Asimismo, quedo advertido que la universidad se reserva el derecho de protocolizar este documento ante Notario Público.

En fe de lo anterior, se firma en la ciudad de San José, a los 20 días del mes de marzo del 2025.

Natalia Portuguez Marin

Firma del (la) estudiante (como aparece en la cédula)

1 1766 0723

Cédula

Melanie Morales Cerdas

Firma del(la) estudiante (como aparece en la cédula)

7 0302 0256

Cédula

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 09/05/2024	Aprobado por: M.sc. Melissa Martinez	Cargo: Decana Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	---	----------------------	--	---------------------------------------	---------------

**Carta de aprobación por parte del tutor para la defensa de Trabajos Finales de
Graduación Farmacia**

San José, 20 de marzo del 2025

Señores:

Comité de Investigación de la Facultad de Farmacia

Universidad de Iberoamérica.

Estimados:

La presente carta es para notificar formalmente que el trabajo final de graduación titulado como "DISEÑO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE EXTRACTOS DE ECHINACEA PURPUREA Y SU APLICACIÓN COMO COADYUVANTE EN LA PROFILAXIS DE LA TRAQUEOBRONQUITIS INFECCIOSA EN PERROS" y realizado por el/la/los estudiantes NATALIA MELISSA PORTUGUEZ MARIN, cédula 1 1766 0723 y MELANIE MORALES CERDAS, cedula 7 0302 0256; el trabajo cumple con los requisitos para la defensa de dicha investigación, se califica dicha aprobación con los siguientes criterios:

	Criterio	Calificación asignada (%)	Calificación obtenida (%)
1	Cumple con las entregas de los avances	20	15
2	Documento presenta coherencia entre los objetivos, justificación, metodología y presentación de los resultados	30	27
3	Documento presente relevancia en las conclusiones de la investigación	25	22
4	Documento presenta alta calidad de detalle del marco teórico	25	25
	Total	100	89

Hago constar que he revisado, calificado y aprobado la investigación en base a las políticas de investigación de la Facultad de Farmacia de la Universidad.

Sin más por añadir, se despide,

Dr. Douglas Oviedo Cerdas

Tutor de la investigación

**DOUGLAS JOSE
OVIEDO
CERDAS (FIRMA)**

Firmado digitalmente
por DOUGLAS JOSE
OVIEDO CERDAS (FIRMA)
Fecha: 2025.05.09
15:42:51 -06'00'

Firma

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 23/05/2024	Aprobado por: M.sc. Melissa Martinez	Cargo: Decana Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	---	----------------------	--	---------------------------------------	---------------

A quien interese.

Yo, Astrid Quirós Granados, Filóloga de la Universidad de Costa Rica; con cédula de identidad 3-438-182, inscrita en el Colegio Licenciados y Profesores, con el carné N° 80791 y en la Asociación Costarricense de Filólogos, con el carné N° 0096, hago constar que he revisado el documento completo. Y he corregido en él, los errores encontrados en redacción, ortografía, gramática y sintaxis. El trabajo se titula:

**DISEÑO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE
EXTRACTOS DE ECHINACEA PURPUREA Y SU
APLICACIÓN COMO COADYUVANTE EN LA
PROFILAXIS DE LA TRAQUEOBRONQUITIS
INFECCIOSA EN PERROS**

**MELANIE MORALES CERDAS
NATALIA PORTUGUEZ MARÍN**

Se extiende la presente certificación a solicitud del interesado, en la ciudad de San José a los diecinueve días del mes de mayo dos mil veinticinco. La filóloga no se hace responsable de los cambios que se le introduzcan al trabajo posterior a su revisión.

9fdb47e-78b2-4989-8add-0270e6d2d9ba
Firmado digitalmente por
9fdb47e-78b2-4989-8add-0270e6d2d9ba
Fecha: 2025.05.19 18:25:08 -06'00'

Universidad de Iberoamérica UNIBE

Centro de Información y Documentación, Biblioteca

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de Trabajos Finales de Graduación (TFG) en el acervo digital del Centro de Información y Documentación "Fernando Flores Banuet" UNIBE.

Yo Natalia Melissa Portuguez Marín con cédula de identidad 1 1766 0723 y domicilio en San José, Pavas, Rohrmoser en Torre Sky Garden Nunciatura en condición de persona autora del TFG por el grado de Licenciatura titulado en Farmacia autoriza de forma gratuita a la biblioteca de UNIBE, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital de la biblioteca de UNIBE y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que UNIBE defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. La persona autora del TFG, garantiza a UNIBE que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Fecha: Viernes 02 de Mayo 2025 Firma de la persona autora:
Natalia

*Uso interno. Clasificación del TFG: _____

Universidad de Iberoamérica UNIBE

Centro de Información y Documentación, Biblioteca

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de Trabajos Finales de Graduación (TFG) en el acervo digital del Centro de Información y Documentación "Fernando Flores Banuet" UNIBE.

Yo Melanie Morales Cerdas con cédula de identidad 7 0302 0256 y domicilio en Residencial Jardines de Tibás, del restaurante Mi Tablita Campesina 125 metros al oeste. Casa 26 D en condición de persona autora del TFG por el grado de Licenciatura titulado en Farmacia autoriza de forma gratuita a la biblioteca de UNIBE, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital de la biblioteca de UNIBE y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que UNIBE defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. La persona autora del TFG, garantiza a UNIBE que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su título, que no infringe ni viola ningún derecho de terceros.

Fecha: 02 de Mayo ²⁰²⁵ Firma de la persona autora: 

*Uso interno. Clasificación del TFG: _____