UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Fundada en 1551
FACULTAD DE FARMACIAYBIOQUÍMICA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE FARMACOLOGÍA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA

Estudio farmacognóstico y actividad anti-inflamatoria del fruto de averrhoa carambola L

TESIS Para optar el Título Profesional de: QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES
WENDELL ALDO GONZALES SIMÓN
MIGUEL ÁNGEL PALACIOS BERNUY
ASESOR Mg. ARILMI GORRITI GUTIÉRREZ

LIMA – PERÚ 2003

. . 1

AGRADECIMIENTOS . 3

RESUMEN . 5

ABSTRACT . 7

INTRODUCCIÓN . 9

I. MARCO TEÓRICO . 11

1.1. ANTECEDENTES . 11

1.1.1. Hábitat y propiedades medicinales . 11

1.1.2. Composición química . 12

1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA . 12

1.2.1. Características de la familia y del género . . 13

1.2.2 Clasificación taxonómica y descripción de la especie . . 14

1.3 INFLAMACIÓN . . 16

1.4 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS . 18

II. SECCIÓN EXPERIMENTAL . 25

2.1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS . . 25

2.1.1 ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO . . 25

2.1.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO . 26

2.2METODOLOGÍA . 27

2.2.1ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO . 27

2.2.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO . 35

2.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO . 39

III RESULTADOS . . 41

3.1ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO . . 41

3.1.1ANÁLISIS PRELIMINAR . . 41

3.1.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO . . 46

3.1.3 ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO . 49

3.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO . . 51

3.2.1 TOXICIDAD AGUDA . 51

3.2.2 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA (MODELO EDEMA PEDAL) . . 51

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO . 55

IV. DISCUSIÓN . 61

CONCLUSIONES . . 65

RECOMENDACIONES . 67

BIBLIOGRAFÍA . 69

ANEXO . . 75

A nuestros padres, por ser la fuerza que nos impulsa a seguir adelante y a nuestros hermanos, por la paciencia y comprensión en el desarrollo de la Tesis.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

AGRADECIMIENTOS

A Nuestra *Asesora Principal*:

Mg. Arilmi Gorriti Gutiérrez.

Por su orientación y ayuda permanente en la realización del presente trabajo.

A Nuestras *Asesoras:*

Q.F. Bertha Jurado Teixeira

Q.F. Rosario Carreño Quispe

Por su labor permanente y guía en el procedimiento del presente trabajo.

Al *profesor* Fredy Quispe Jacobo, por su orientación en cromatografía en columna.

A los *Miembros del Jurado Examinador y Calificador*:

Presidente: Dr. Pedro Cotillo Zegarra

Miembros:

Mg. Luis Miguel Félix Veliz

Mg. Raúl Soria López

Q.F. Juan Pérez León Camborda

Por los aportes y correcciones brindadas para la culminación del presente trabajo.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

RESUMEN

Se ha realizado el estudio farmacognóstico de los extractos: acuoso y alcohólico en droga fresca y extracto etéreo en droga seca de *Averrhoa carambola* L, así como el estudio farmacológico, que comprueba la actividad antiinflamatoria del extracto etéreo, sobre ratas albinas machos (especie Holtzmann).

En el análisis farmacognóstico de los tres tipos de extractos (acuoso, alcohólico y etéreo), se han realizado reacciones preliminares de identificación, y posterior comprobación por *análisis cromatográfico.* Se han evidenciado presencia de *taninos, flavonoides,* y vitaminas B1 y C, en el extracto acuoso. *Taninos y flavonoides* en el extracto alcohólico, así como también, la presencia de compuestos *esteroidales,* en el extracto etéreo; este último, se ha purificado y *fraccionado* mediante *cromatografía en columna,* lográndose obtener un compuesto mayoritario que al ser analizado por *Espectroscopía Infrarroja* en la Unidad de Servicios de Análisis Químico (USAQ) de la Univ. Nac. Mayor San Marcos, se ha identificado como tipo esteroidal.

Debido a la presencia de mayor cantidad de esteroides en el análisis cromatográfico, se ha procedido a la investigación de la actividad *antiinflamatoria* del extracto etéreo en ratas albinas machos, comprobándose su actividad antiinflamatoria, mediante el método *edema pedal* en ratas, inducido por la administración subplantar de 0.1 mL de carragenina al 1%. La edad promedio de los animales ha sido de tres meses, sus pesos variaron de 180 a 220 g. Se ha administrado por vía oral, diluciones del extracto etéreo (0.5 mL; 1 mL; 2.5 mL y 5 mL, de una solución de 11 mg/mL) y del estándar a diferentes dosis (0.04 mg/Kg.; 0.1 mg/Kg.; y 0.2 mg/Kg.), treinta minutos antes de producirse el edema. El efecto antiinflamatorio se ha medido en un *pletismómetro,* cada treinta minutos, por un periodo de cinco horas. Con este método, se ha determinado el efecto antiinflamatorio del extracto etéreo, obteniéndose una eficiencia antiinflamatoria de 14.89% a 64.27%. Finalmente, al evaluar la toxicidad aguda del extracto etéreo en ratones albinos machos (especie Balb-C.53), se ha encontrado que a dosis de 3.81 g/Kg.; 7.86 g/Kg. y 24.22 g/Kg. de peso de animal, no se han presentado signos de toxicidad, ni muerte de los animales, durante los siete días posteriores a la administración.

Palabras claves: *Averrhoa carambola* L., antiinflamatorio, CCF, CC, IR, taninos, flavonoides, esteroides, edema pedal.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

ABSTRACT

The pharmacognostic study of alcoholic and aquous extracts has been done in fresh sample and ethereal extract from *Averrhoa carambola* L's dry sample, so as pharmacologic study that prove the anti-inflammatory activity of ethereal extract on albine male rats (Holtzmann species).

In pharmacologic analysis of three kinds of extracts (aquous, alcoholic and ethereal extracts), has been identified by preliminary reactions and chromatography analysis later. It has made evident the presence of tannins, flavonoids, and B1 and C vitamins in aquous extract. Tannins, flavonoids in alcoholic extract, also steroidal compounds in ethereal extract, this extract has been cleaned and fractioned by column chromatography, obtaining a majority compound identify by Infrared Spectrometry in Chemistry Analysis Service Entity (USAQ)-UNMS.

Because bigger quantity of steroids in chromatography analysis, we have continued with anti-inflammatory activity assay in ethereal extract on albine male rats, we have proved its anti-inflammatory activity by paw edema model induced by 1% carragenin administration in hind paw of the rat. The animal#s age was three months, its weight from 180 to 220 g, the ethereal extract has been administrated by oral way (0.5 mL; 1mL; 2.5 mL and 5 mL, of one solution 11 mg/mL) and standard to doses differents (0.04 mg/Kg.; 0.1 mg/Kg.; y 0.2 mg/Kg.), 30 minutes before edema production. The anti-inflammatory effect has been measured by pletismometro each 30 minutes, by 5 hours. With this method has been determinated the anti-inflammatory effect of ethereal extract, to became getting efficiency from 14.89% to 64.27%. Finally the acute toxicity assay on albine male mice (Balb-C.53 species) to doses 3.81 g/Kg.; 7.86 g/Kg. and 24.22 g/Kg. has not evidenced toxicity signals, has not anyone killed during seven days of administration later.

Key words: *Averrhoa carambola* L, anti-inflammatory, thin layer chromatography, tannins, flavonoids, steroids, paw edema.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

INTRODUCCIÓN

El gran número de especies vegetales que presenta la Flora Peruana, ha motivado que hoy se difunda extensamente las bondades que brinda la naturaleza, para el tratamiento de múltiples enfermedades.

Desde la antigüedad, las plantas han formado parte importante en la alimentación y alivio de enfermedades. Las plantas medicinales, eran veneradas por el hecho de curar males que aquejaban al hombre, estas virtudes se han transmitido de generación en generación, a nadie le ha interesado el porqué y como actuaban, para la época, era un hecho incontestable.

Un gran porcentaje de los principios activos están comprendidos dentro de los llamados **“ metabolitos secundarios”** (de estructura relativamente compleja y distribución más restringida), donde aún no se ha descubierto una función metabólica en la planta, por lo que son considerados *artículos de lujo*; a diferencia de los **“metabolitos primarios”**, que se encuentran distribuidos universalmente y participan en la actividad celular de todo ser vivo, pero no poseen las extraordinarias propiedades terapéuticas de los metabolitos secundarios.

Es obligación, como profesionales de la salud, incrementar el estudio de especies vegetales para ofrecer una base científica a la utilización de plantas medicinales y así contribuir a su mejor aprovechamiento, ya que se encuentran distribuidas ampliamente en nuestro territorio, están al alcance de todos y se proponen como alternativa, frente a medicamentos de síntesis.

El fruto de la especie vegetal Averrhoa carambola L ha sido recientemente incorporado a la mesa peruana y rápidamente está adquiriendo popularidad. La planta cuyo centro de origen es el Asia sur oriental y el centro de densificación en el Perú, se extiende debajo de los 1 200 m.s.n.m.,de la Costa a la Amazonía,siendo utilizada como bebida refrescante.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivos:

- Realizar el análisis farmacognóstico del fruto de la especie vegetal ***Averrhoa carambola*** L.
- Determinar la DL_{50} del extracto etéreo.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto etéreo.

Esta investigación se ha realizado gracias al apoyo de las Cátedras de Farmacognosia y Farmacología de la Universidad Nacional Mayor San Marcos.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

I. MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Hábitat y propiedades medicinales

Averrhoa carambola L, es una especie originaria del Asia sur oriental (Sri Lanka e islas Molucas principalmente); se encuentra distribuida en muchos países tropicales de América (sur de Florida, Costa Rica, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, etc.), Islas del Pacífico como: Hawai, Tahití, Nueva Caledonia, Nueva Guinea, Guam. Países asiáticos como: Indonesia, Singapur, China, Taiwán, Malasia, Filipinas, Tailandia. En América, Brasil es el país que más la cultiva. En el Perú se extiende debajo de los 1 200 m.s.n.m., de la Costa a la Amazonía, siendo de clima cálido y húmedo, y su temperatura de 18 a 34º C. (8, 10, 53) La carambola se clasifica como subtropical, porque los árboles maduros pueden tolerar temperaturas tan bajas como 2.78º C por períodos de tiempo cortos con poco daño. Sin embargo, las plantas jóvenes son más susceptibles a la helada y pueden morir a 0º C. (14, 27, 54, 55, 79)

La germinación ocurre de 15 a 20 días después de la siembra, con escarificación (la semilla se trata en BM). El tiempo de floración es de dos años y el tiempo de la primera

cosecha, dos años con dos meses aproximadamente. Los árboles inician su producción entre los 4 y 5 años, pudiéndose obtener tres cosechas al año, teniendo en cuenta que florece y fructifica durante todo el año. (3)

Entre las **propiedades medicinales** que se les atribuye, mencionaremos su beneficio en el tratamiento de: “acne, angina, afta, varicela, tos, dermatosis, diabetes, diarrea, gingivitis, resaca, dolor de cabeza, hipertensión, inflamación, nausea, reumatismo, tiña y escorbuto”. En la India, el fruto maduro es administrado para detener hemorragias y aliviar hemorroides sangrantes. El jugo es un febrífugo excelente, se usa contra toda clase de fiebres. Un macerado de la fruta se dice que alivia la depresión, diarrea y resaca (hangover). La carambola es recomendada como diurético en problemas renales y de vejiga, también se cree que tiene efectos beneficiosos en el tratamiento de eczema. Una decocción de hojas y frutos se toma para sobreponerse al vómito. Las hojas trituradas en forma de emplasto, son colocados en erupciones de varicela, también en tiña. Las flores son administradas como vermífugas. En el sureste asiático, las flores son usadas en dermatitis causada por lacas naturales derivadas del árbol *Rhus verniciflua*. Las hojas presentan actividad hipoglucemiante, demostrada por Rosemeire, D. y colaboradores(1998), en elDepartamento de Análisis Clínicos y Toxicológicos de la “Universidad de Amazonas” de Brasil. Las hojas amasadas tienen aplicación externa contra picaduras venenosas, así como también las raíces con azúcar, son consideradas como antídoto para venenos. El ácido hidrociánico fue detectado en las hojas, tallos y raíces. Una decocción de las semillas trituradas actúa como galactogogo y emenagogo, pero es ligeramente tóxica, la semilla pulverizada se usa como sedante en casos de asma y todo tipo de cólicos. Además el zumo es utilizado para limpiar y pulir metales, debido a los diferentes tipos de ácidos que contiene el fruto, también se usa para blanquear manchas de ropa blanca. (5, 49, 53, 54, 55)

1.1.2. Composición química

Posee compuestos **norisoprenoides**, responsables principalmente del aroma en plantas, se producen por fragmentaciones de carotenoides por acción de la luz, obteniéndose metabolitos de 9, 10, 11 y 13 átomos de carbono; entre los que destacan los C-13 norisoprenoides (figura 1A). (6, 23, 24, 25, 26, 81, 84) También **alkenoles**, compuestos responsables del aroma en especies vegetales (figura 1B) (44) y otros tales como: Vitaminas (A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B5 (niacina) y C); ácidos (oxálico, cítrico, málico, succínico, fumárico y α-cetoglutárico); aminoácidos (asparragina, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, ácido gamma amino butírico (GABA), ornitina e histidina); proteinas; carbohidratos y grasas (8, 54, 55)

1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

1.2.1. Características de la familia y del género

La familia Oxalidaceae está compuesta por 8 géneros y unas 1 000 especies; representada en el Perú por 4 géneros (*Averrhoa*, *Oxalis, Hypseocharis y Biophytum*) y 101 especies de plantas, en su mayoría herbácea y vivaz, químicamente no están bien estudiadas; en los estudios realizados predominan los oxalatos, mayormente de potasio. Se caracteriza por presentar rizomas, tubérculos o estolones, hojas esparcidas, frecuentemente compuestas (pinnadas o digitadas), con estípulas o sin ellas; flores hermafroditas y de simetría radial, esto es, actinomorfas; androceo de diez estambres dispuestos en dos verticilos estaminales, los externos epipétalos y más cortos que los internos, filamentos más o menos unidos inferiormente en un tubo que los deja libres en la parte superior.

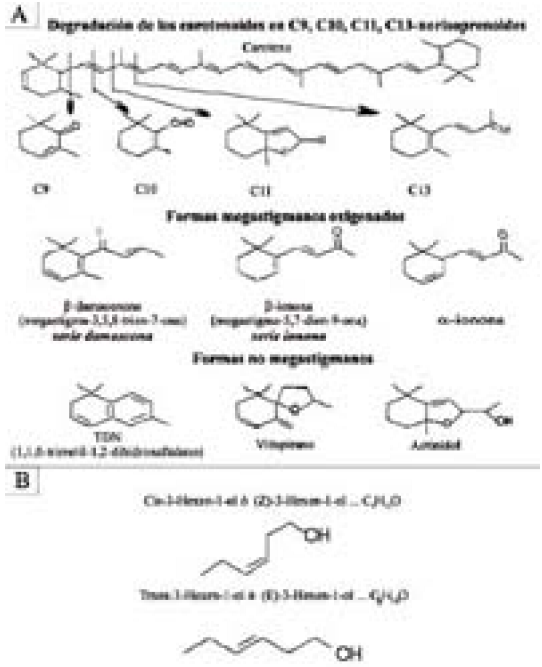


Figura 1. A) Principales familias derivados C13 norisoprenoides, y B) Alkenoles presentes en la carambola.(23, 44)

El ginecéo se compone de 5 carpelos soldados en un ovario que se transforma en una cápsula por lo común pluriseminada (pluriovulados), raramente, en una baya. (29, 31, 56, 74)

El género *Averrhoa* se nombra en honor de Averrhoes, médico árabe. A este género corresponden dos especies arborescentes de la región indomalaya, cultivadas en muchos países cálidos, por ejemplo, en las Antillas y en América continental; del llamado "carambolo" (***Averrhoa carambola*** L), brotan frutos a manera de pepinillos de sabor ácido, llamados carambolas, que sirven para preparar compotas y bebidas refrescantes. *Averrhoa bilimbi* es el grosellero de China o bilimbi, que posee frutos alargados, hasta 5 cm., de sabor y empleo semejantes a los de la especie anterior. (29)

1.2.2 Clasificación taxonómica y descripción de la especie

De acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist (1988), tiene la siguiente posición sistemática:

División: MAGNOLIOPHYTA (SPERMATOPHYTA*)

Subdivisión: ANGIOSPERMAE*

Clase: MAGNOLIOPSIDA (DICOTYLEDONEA*)

Subclase: ROSIDAE*

Orden: GERANIALES

Familia: OXALIDACEAE

Género: *Averrhoa*

Especie: ***Averrhoa carambola*** L

Nombre Vulgar: “Carambola” (Anexo)

Otros nombres:

- Colombia: Carambolo, caramolo.
- Brasil: Lima de callenas, cambola.
- Perú: Carambola.
- Costa Rica: Tiriguro, cambola.
- Francia:Pomier de goa, carambolier, cambola.
- Portugal: Lima de cayenas, cambola.
- China: Durazno extranjero.
- Filipinas: Belimbing, cambola.
- India: Kamaranga.
- Florida: Star fruit, cambola.
- Tailandia: Ma-fuang.
- Laos: Fuang.
- Vietnam:Khe.
- Malasia: Carambola, belimbing. (13, 14, 20, 54, 55, 78, 79)

Árbol de 5-12 metros de altura, de tronco tortuoso, corteza color gris pardo o gris oscuro, y de crecimiento lento (foto 1). **H ojas** alternas, pecioladas, pinnadas, aovadas o elípticas-oblongas, ápice corto-acuminado, raquis triangular de color café violeta o morado verdoso, cubierto densamente con pelos cortos de color café o rojizo. Las **flores** rosadas, en racimos (lateralmente sobre ramas viejas o jóvenes), pequeñas y heterodísticas (algunos árboles producen flores con estilos cortos y estambres largos, y otros, producen flores con estilos largos y estambres cortos); los 5 **sépalos** están

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

imbricados en el botón, aovados con puntas redondeadas, lisos o casi lisos de color rojo oscuro; los 5 **pétalos** son oblongos, de color violeta rojizo con orillas blancas; los **estambres** epipétalos, carecen de anteras o tienen una o dos anteras abortivas sin polen; las **anteras** son de color blanco amarillento, pequeñas, con dos lóbulos en la base y con dos celdas; **ovario** con 2-4 óvulos superpuestos en cada celda. Los **frutos** (foto 2) llamados comúnmente "carambolas", son elipsoides u ovoides con 5 costillas o lóbulos longitudinales, color amarillo translúcido o dorado pálido, con 1-2 semillas colgantes cerca de la base, en cada celda. Crecen en racimos, poseen pulpa transparente, astringente cuando es verde y gratamente ácida cuando está madura, e incluso dulce; de perfume fuerte al igual que el membrillo. Al corte transversal se observa apariencia de estrella, por la que se la conoce como "fruta estrella". A cada costilla del fruto le corresponde un lóculo con dos **semillas** planas; cada fruto posee de 10 a 12 semillas, sin embargo, se dan casos en la que el fruto no presenta semilla (partenocárpicos). Las semillas son delgadas y están parcialmente encerradas por arilo húmedo y gelatinoso, ovoides, muy comprimidas y testa de color café claro brillante. (5, 8, 10, 20, 45, 53, 54, 55)



Foto 1. Árbol de la especie vegetal Averroha carambola L.



Foto 2. Frutos de la especie vegetal Averroha carambola L.

1.3 INFLAMACIÓN

Los signos de la inflamación ya aparecían descritos en un papiro egipcio (3000 a. de C.). La inflamación como fenómeno patológico, fue bien conocida por los médicos griegos y ha ocupado siempre, desde los tiempos de HIPÓCRATES de COS (alrededor de los años 460-377 a. de C.), un lugar central en el pensamiento médico; la salud se basaba en la composición normal de los humores orgánicos, y la enfermedad consistía en una alteración de éstos; fue Celsus, un escritor romano del siglo I d. de C., el primero que descubrió los cuatro signos cardinales de la inflamación: rubor (enrojecimiento), tumor, calor, y dolor. Posteriormente Virchow añadió el quinto signo clínico: pérdida de la función *(functio laesa).* En 1793, el cirujano escocés John Hunter, destacó algo que en la actualidad consideramos obvio: que la inflamación no es una enfermedad, sino una respuesta inespecífica, que produce un efecto saludable en el organismo en el que tiene lugar, es decir, que el proceso inflamatorio es en esencia, de carácter protector. Julius Cohnheim (1839-1884), fue el primer investigador que utilizó el microscopio para observar vasos sanguíneos inflamados en membranas finas y translúcidas. El biólogo ruso Elie Metchnikoff, descubrió el proceso de fagocitosis al observar la ingestión de espinas de rosal por los amebocitos de las larvas de estrellas de mar, y de bacterias por leucocitos de mamífero (1882). Sir Thomas Lewis, estableció que, diversas sustancias químicas inducidas localmente por el estímulo de una lesión, como la histamina, son factores mediadores de las alteraciones vasculares de la inflamación. (17, 38, 63, 64, 80)

La inflamación es la reacción o conjunto de respuestas de los tejidos vivos vascularizados frente a una agresión física o infecciosa, que determina en los sistemas homeostáticos de la sangre y en el tejido conectivo, una serie de cambios encaminados a localizar y aislar el agente agresor para luego eliminarlo y reparar el daño tisular producido por él. (46, 63, 67, 69)

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

La inflamación **aguda**, conocida también como respuesta inmediata, es de curso rápido, observándose los cuadros clásicos de inflamación (calor, rubor, tumefacción y dolor)

- Modificaciones en el calibre de los vasos

- Alteraciones en la estructura de la microvasculatura (diapédesis o transmigración).

- Emigración de los leucocitos (quimiotaxis, activación de los leucocitos (figura 2) y fagocitosis). (4, 17, 43, 63, 82)

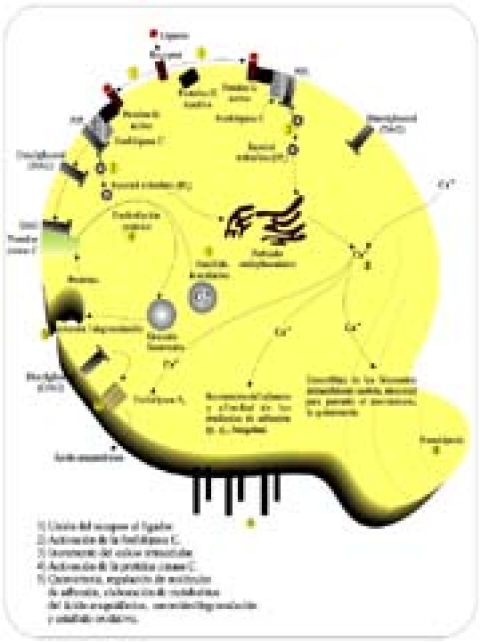


Figura 2. Acontecimientos bioquímicos en la activación leucocitaria(17)

La inflamación crónica, de duración prolongada y se caracteriza por:

- Infiltración por células mononucleares (macrófagos, linfocitos y células plasmáticas).

- Destrucción tisular, inducida principalmente por células inflamatorias.

- Intentos de reparación, mediante sustitución del tejido lesionado por tejido conjuntivo, con proliferación de vasos (angiogénesis) y fibrosis. (4, 17, 69)

Los vasos y ganglios linfáticos en la inflamación, junto al sistema mononuclear fagocítico, constituyen la segunda línea de defensa, cuando la inflamación local no es capaz de contener y neutralizar la lesión (figura 3A). (17)

Los mediadores químicos de la inflamación, son los responsables de los acontecimientos que desencadenan la inflamación (figuras 3B y 4B), existiendo además relación entre los cuatro sistemas mediadores plasmáticos (cininas, coagulación, fibrinolítico y complemento) en la inflamación (figura 4A). (15, 17, 28, 36, 60, 77)

1.4 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Clasificación de acuerdo a su mecanismo de acción:

1)Fármacos que actúan sobre derivados del ácido araquidónico:

a)Inhibidores de COX: AINEs.

b)Inhibidores de lipoxigenasa: aún no disponibles en el mercado.

c)Inhibidores de fosfolipasa A2: glucocorticoides.

d)Desplazan la vía de los eicosanoides hacia productos inactivos: ácidos grasos ω-3

2)Fármacos que modifican las funciones de los polimorfonucleares:

a)Inhibidores de la migración leucocitaria: colchicina.

b)Estabilizadores de la membrana lisosomal: cloroquina e hidroxicloroquina

3)Fármacos que neutralizan los radicales libres de oxígeno:

a)Enzimas que inactivan radicales superóxidos: ergoteína

4)Fármacos "modificadores de la enfermedad" en reumatología:

a)Sales de oro.

b)D-penicilamina.

c)Antipalúdicos: cloroquina e hidroxicloroquina.(39)

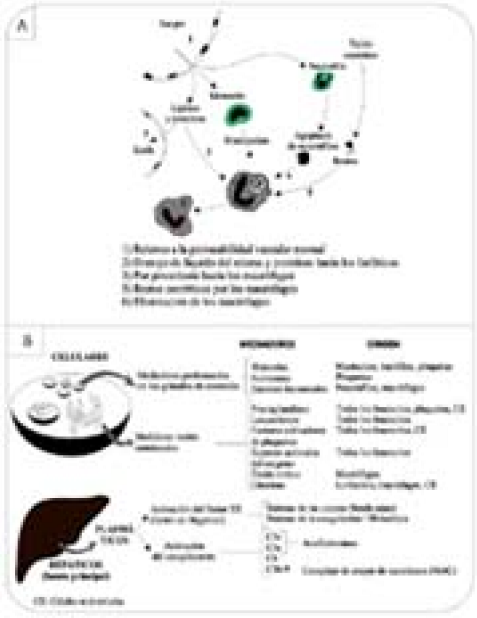


Figura 3. A)Acontecimientos en la resolución de la inflamación y B)Mediadores químicos de la inflamación (17)

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

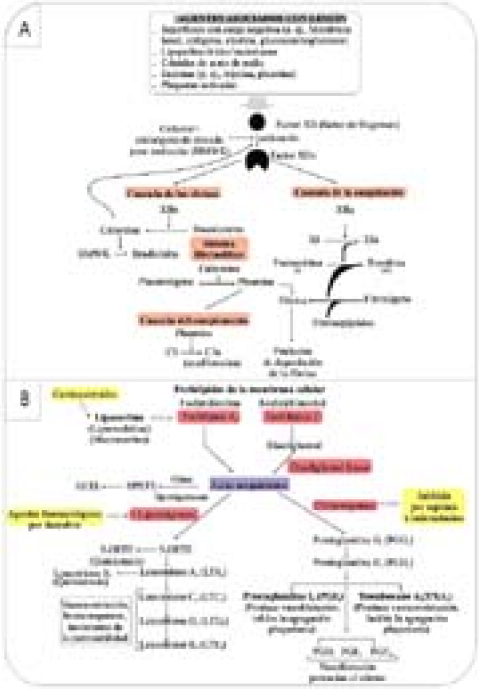


Figura 4. A) Relación entre los cuatro sistemas mediadores plasmáticos en la inflamación, y B)Generación de metabolitos del ácido araquidónico y sus funciones en la inflamación.(17)

Los **antiinflamatorios no esteroideos (AINEs),** son un grupo de fármacos ampliamente empleados gracias a sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antipiréticas e inhibidores de la función plaquetaria. En cuanto a su **mecanismo de acción,** actúan inhibiendo la ciclooxigenasa (COX), provocando a su vez inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas (figura 5) (32, 35, 37, 52, 58, 63, 70, 72)

Clasificación de los AINEs de acuerdo a su estructura química:

· Aspirina y derivados salicilados

– Ácido acetilsalicílico

· Derivados del ácido difluorofenil

– Diflunisal

· Pirazolonas y derivados

– Fenilbutazona

· Indoles y derivados

Ácidos indol-acéticos y sus derivados aromáticos y heteroaromáticos:

- Indometacina

Ácidos indeno-acéticos:

- Sulindac

· Ácidos arilantranílicos o fenamatos y derivados

– Ácido mefenámico

· Ácidos arilalcanoicos

Ácidos arilacéticos:

- Diclofenaco

Ácidos arilpropiónicos:

- Ibuprofeno
- Naproxeno

· Oxicanos

– Piroxicam
– Tenoxicam

· Naftilalcanonas

– Nabumetona

· Otros

– Bencidamida
– Bufexamac
– Nimesulida. (35, 39)

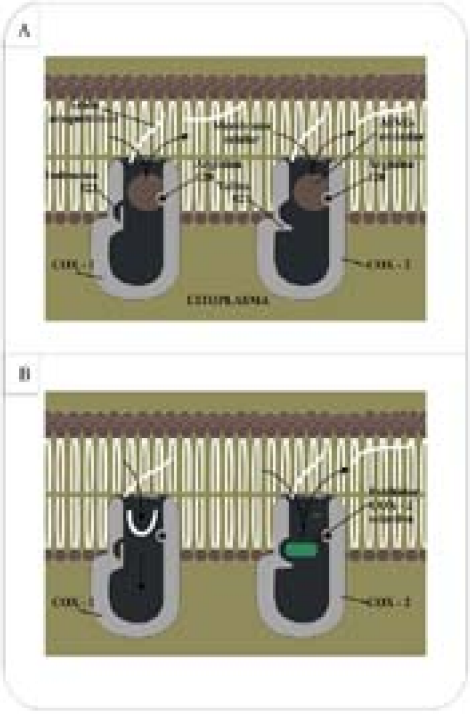


Figura 5. A)Acción de los AINEs tradicionales frente a la expresión de las dos isoformas (COX-1 y COX-2); B)Acción de los inhibidores COX-2 selectivos frente a la expresión de las dos isoformas (63)

Las acciones farmacológicas de los AINEs son:

- Efecto analgésico y antipirético.

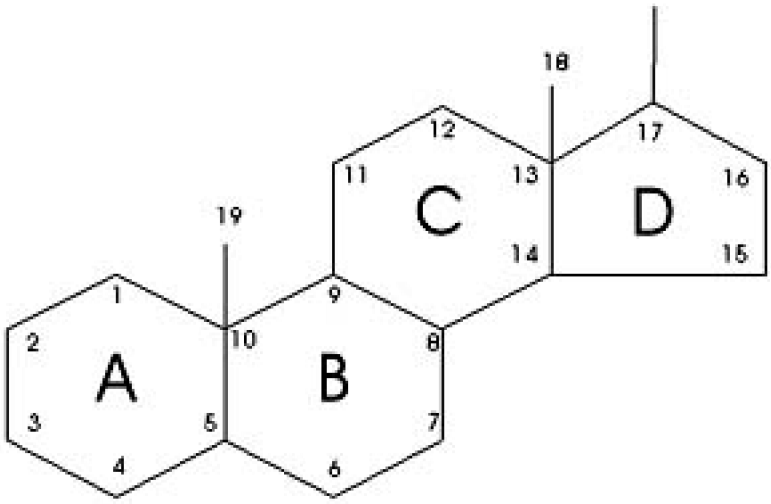
- Efecto sobre la función plaquetaria

- Efectos antiinflamatorios y antirreumáticos

- Otros efectos: en el tratamiento de la dismenorrea e hipermenorrea por dispositivo intrauterino (IUD), cólico renal. (35)

Los **antiinflamatorios esteroideos (AIEs),** son productos naturales tetracíclicos que derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno, hidrocarburo polinuclear alicíclico, relacionados con los terpenos, especialmente con el triterpenoide escualeno, que es un intermediario de la síntesis de esteroides. (9, 32, 42, 76)

La fórmula general de su estructura básica es:



Los **esteroides suprarrenales** son utilizados para diagnóstico y tratamiento de trastornos de la función suprarrenal y enfermedades inflamatorias e inmunitarias. (22, 40, 46, 58, 32)

Se clasifican en:

- **Glucocorticoides**, que se sintetizan en la *zona fascicular* de la glándula suprarrenal, actuando a nivel del metabolismo de glúcidos o hidratos de carbono, poseen actividad antiinflamatoria, presentan oxígeno en el C-11, y están formado por 21 átomos de carbono.(40, 46, 58)
- **Mineralocorticoides**, sintetizados en la *zona glomerular* de la glándula suprarrenal, actúan a nivel del metabolismo inorgánico (balance hidrosalino), generalmente no tienen oxígeno en la posición C-11, poseen 21 átomos de carbono. (40, 46, 58)
- **Hormonas sexuales,** sintetizadas en la *zona reticular* de la glándula suprarrenal, poseen 19 átomos de carbono. (40, 46, 58)

La **acción antiinflamatoria de los glucocorticoides,** se debe a que estimulan la síntesis de una proteína, la lipocortina, la cual inhibe a la fosfolipasa A_2, frenando la síntesis del ácido araquidónico y todos los derivados de éste (figura 6). (7, 21, 22, 40, 46, 50, 57, 58, 59)

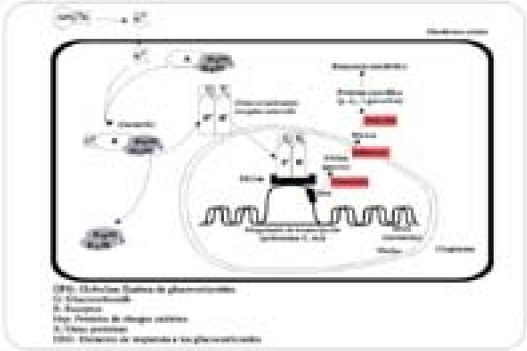


Figura 6. Mecanismo de acción de los glucocorticoides.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

II. SECCIÓN EXPERIMENTAL

2.1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.1.1 ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

2.1.1.1 Materiales:

.Cubas de revelado	Pulverizador	Matraz
.Estufas	Tubos de prueba	Balón
.Cocinillas eléctricas	Placas cromográficas	Pipetas
.Lámpara UV 365nm	Capilares	Beacker

2.1.1.2 Equipos:

- Equipo de reflujo
- Rotavapor

2.1.1.3 Reactivos:

a) Reactivos cromógenos:

Molish	Nitroprusiato de sodio	Dragendorf
Fehling	Cloruro de mercurio	Popoff
Benedic	Ninhidrina	Sonneschein
Tollens	Triclurro férrico 5%	Bertrand
Barfoed	Bicromato de potasio 5%	Meyer
Fenilhidracina	Gelatina	Keller – Killiani
Bertrand	Formol clorhídrico	Vainillín Clorhídrico
Allihn-Honing y J.	Shinoda	Ácido tricloroacético
Selivanoff	Hidróxido de amonio dil.	Ácido silicotúnstico
Berg	Grinard	Rosenheim
Solución de yodo	Salkowski	Rosenthaler
Vainillín Sulfurídico	Hidróxido de potasio 10%	Vainillín fosfórico
Carr - Price	Tricloruro de potasio 1%	Amoniaco conc.
Liebermannn Burchard		

b)Solventes:

Éter	Dietilamina	Ácido acético
Cloroformo	Ácido fórmico	Metanol
Benceno	Tolueno	Alcohol etílico 96%
Hexano	Butanol	Acetona
Acetato de etilo	Alcohol amílico	

c)Silicagel GF_{254}

d)Sílica fina de columna (0.05-0.2 mm de diámetro)

2.1.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO

2.1.2.1Materiales:

- Cronómetro
- Jeringas de 1, 2.5 y 5 mL.
- Sonda oral metálica para ratas
- Balanza analítica eléctrica (sensibilidad 0.0001 g).
- Balanza para animales (sensibilidad 0.1 g).

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

2.1.2.2 Equipos:

- Pletismómetro

2.1.2.3 Material biológico:

- Ratas albinas (48), cepa Holtzmann de 180 a 220 g de peso, de 3 meses de edad.
- Ratones (9), cepa Balb-C.53 de 20 a 25 g de peso, de 3 meses de edad.

2.1.2.4 Sustancias:

- Carragenina al 1% en solución salina.
- Dexametasona 4 mg/2 mL.
- Extracto etéreo seco de la especie ***Averrhoa carambola*** **L**, al 1.1% en solución de agar-agar al 0.1%.

2.2METODOLOGÍA

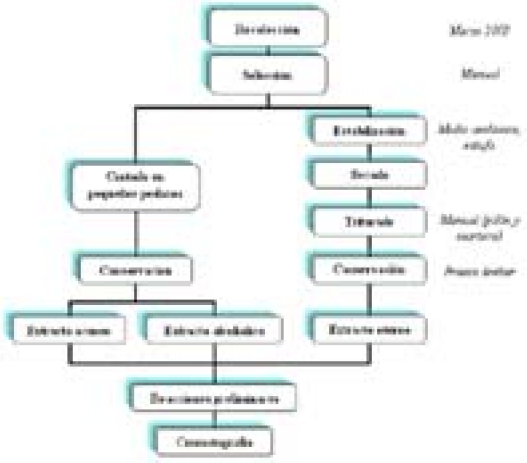
2.2.1ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

2.2.1.1Recolección, selección y estabilización de la droga

La especie vegetal fue recolectada en el mercado mayorista de Lima (Parada), seleccionando posteriormente aquellas muestras que no presenten daño.

La desecación se ha realizado con la finalidad de obtener extracto etéreo, para ello, la muestra se ha puesto a temperatura normal, en ambiente cerrado, completándose la desecación en estufa a 54º C por semanas, hasta obtener peso constante; una vez desecado, se le ha triturado para macerarlo.

Esquema 1. Preparación de los extractos acuoso, alcohólico y etétero,ensayos preliminares y Cromatografía



2.2.1.2 Preparación de extractos

El fruto fresco se ha cortado en pequeños pedazos, y colocado en dos frascos diferentes de color ámbar, uno para obtener el extracto acuoso después de dos horas de reflujo, y el otro para obtener el extracto alcohólico después de una semana de maceración con alcohol etílico 96º hasta cubrir la muestra, obteniéndose de esta manera, los extractos respectivos para la investigación farmacognóstica. (esquema 1)

En el caso del extracto etéreo, una vez desecado y triturado, se ha procedido a guardar en frasco vidrio color ámbar y se completa con éter hasta cubrir la muestra, luego se macera por dos semanas, obteniéndose el extracto etéreo para la investigación farmacognóstica y farmacológica. (esquema 1)

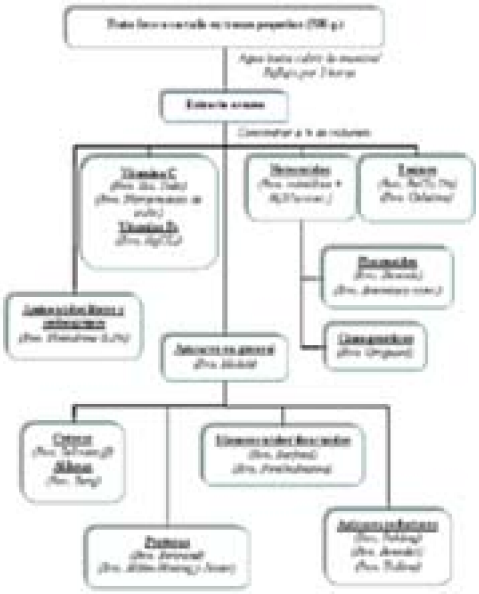
2.2.1.3Análisis farmacognóstico

Marcha fitoquímica

Para determinar los metabolitos, se ha realizado las siguientes marchas fitoquímicas:

Esquema 2. Marcha fitoquímica preliminar (Extracto acuoso)

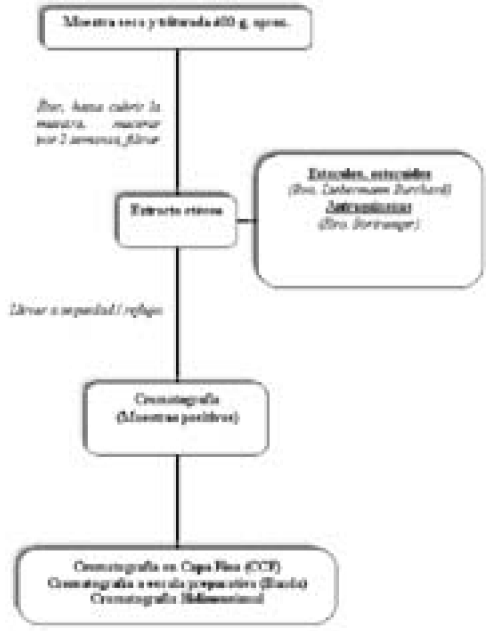
"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"



Esquema 3. Marcha fitoquímica preliminar (Extracto etanólico)



Esquema 4. Marcha fitoquímica preliminar (Extracto etéreo)



Ensayos preliminares

Con la finalidad de detectar los diferentes constituyentes químicos de esta especie, se emplearon solventes de diferentes polaridades para su extracción y las siguientes reacciones:

a)Ensayo físico

Índice Afrosimétrico (Prueba de la espuma)

Con extractos acuoso y alcohólico en tubos de ensayos diferentes y un volumen doble de agua, se agitó por un minuto y se dejó en reposo por media hora.

b)Ensayo biológico

Índice Hemolítico (IH)

En placa petri con medio agar-sangre, se colocan tiras embebidas con los extractos acuoso, alcohólico y etéreo.

c)Ensayos de coloración

Se han realizado pruebas de color, en tubos de ensayos para determinar si hay presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios más importantes, tal como se muestran en los esquemas 2, 3 y 4.

Obtención de compuestos tipo esteroidal

El fruto seco y triturado, equivalente a 1 Kg. de fruta fresca, se macera en éter por dos semanas, filtra y separa el solvente mediante reflujo, obteniéndose 1.7 gramos de extracto seco, al que se le ha practicado ensayos cromatográficos en capa fina, obteniéndose coloraciones características con reveladores específicos para esteroides; se realizó CCF a escala preparativa (banda), cromatografía bidimensional, y dos cromatografías en columna.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

2.2.1.4 Análisis cromatográfico y fraccionamiento del extracto etéreo

- Fundamento. Permite aislar componentes de mezcla de solutos, basada en la diferencia de la velocidad de migración de cada uno de los componentes, a través de la *fase estacionaria*, arrastrada por la *fase móvil.* (65, 73)
- Cromatografía en Capa Fina. Se han utilizado placas cromatográficas, de Silicagel GF254, activadas en estufa a 105° C durante 30 minutos, se aplica la *muestra problema*, utilizando capilares nuevos; posteriormente colocados en cámaras de separación cromatográfica previamente saturada con los sistemas de solventes respectivos; se han ensayado previamente con diferentes sistemas de solventes:

Para sustancias polares

Butanol/ácido acético/agua (4:1:15); (4:1:5); (1:1:1)

Butanol/acetato de etilo/agua (4:1:5)

Butanol/ácido acético/acetato de etilo (3:1:4), (7.5:2.5:10)

Butanol/etanol/agua (1:1:1)

Cloroformo/metanol/agua (6.5:3.5:10)

Cloroformo/acetona/ácido fórmico (15:13:17)

Cloroformo/acetona (9:1)

Alcohol amílico/ácido acético/agua (2:1:1)

Acetato de etilo/agua/ácido fórmico (15:3:2)

Tolueno/acetato de etilo/ácido fórmico (8:2:1)

Para sustancias menos polares

Hexano/acetato de etilo (1:1)

Cloroformo/dietilamina (9:1)

Ciclohexano/acetato de etilo (2:8)

Ciclohexano/cloroformo/acetato de etilo (5:4:1)

Benceno/éter (1:9)

Benceno/acetona (9:1)

Benceno/metanol (9:1)

Benceno/cloroformo (9:1)

Benceno/acetato de etilo/dietilamina (7:2:1)

Cloroformo/acetona/dietilamina (5:4:1)

Resultando como mejores solventes:

Butanol/ácido acético/agua (4:1:5).....para taninos

Acetato de etilo/agua/ácido fórmico (15:3:2) .....para flavonoides

Benceno/cloroformo (9:1) .....para esteroides

· Cromatografía en Capa Fina a escala preparativa (Banda)

Se han utilizado placas cromatográficas de 20 x 20 cm. (1.5 mm de espesor), con la finalidad de purificar el extracto y aislar el metabolito mayoritario.

· Cromatografía Bidimensional

Se han empleado los siguientes sistemas de solventes:

a)Benceno/cloroformo (9:1)

b)Hexano/cloroformo/metanol (80:10:0.5)

· Cromatografía en Columna

Se ha trabajado con un gramo del extracto etéreo seco, para este propósito se amoldó una pipeta de 0.5 cm. de diámetro como columna (foto 3), la sílica de columna con hexano se ha empacado (llenado) en la columna, luego se hizo lo mismo con el extracto etéreo seco mezclado con dicha sílica, teniendo en cuenta que el hexano esté por encima del sistema, posteriormente se eluyó con diferentes proporciones del sistema hexano/acetato de etilo en la primera cromatografía en columna, y en la segunda con diferentes proporciones del sistema éter de petróleo/hexano.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"



Foto 3. Cromatografía en columna (adaptado)

Tabla 1. Cromatografía en Columna, sistema: hexano/acetato de etilo en diferentes proporciones

Nº de Fracciones	Sistemas	Nº de viales (5 a 10 mL / vial)	Características
1	Hexano	1, 2, 3,....., 10	De amarillo intenso a transparente
2	Hexano: acetato de etilo (19:1)	11, 12, 13	Transparente
2	Hexano: acetato de etilo (18:2)	14, 15, 16	Transparente
2	Hexano: acetato de etilo (17:3)	17, 18, 19	Transparente
3	Hexano: acetato de etilo (16:4)	20, 21, 22	Amarillo
3	Hexano: acetato de etilo (15:5)	23, 24, 25	Amarillo
3	Hexano: acetato de etilo (14:6)	26, 27, 28	Amarillo
3	Hexano: acetato de etilo (13:7)	29, 30, 31	Amarillo
3	Hexano: acetato de etilo (12:8)	32, 33, 34	Amarillo pálido
3	Hexano: acetato de etilo (11:9)	35, 36, 37	Casi transparente
4	Hexano: acetato de etilo (10:10)	38, 39, 40	Transparente
4	Hexano: acetato de etilo (9:11)	41, 42, 43	Transparente
5	Hexano: acetato de etilo (8:12)	44, 45, 46	Amarillo
5	Hexano: acetato de etilo (7:13)	47, 48, 49	Amarillo
5	Hexano: acetato de etilo (6:14)	50, 51,52	Amarillo
5	Hexano: acetato de etilo (5:15)	53, 54, 55	Amarillo pálido
5	Hexano: acetato de etilo (4:16)	56, 57, 58	Casi transparente

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

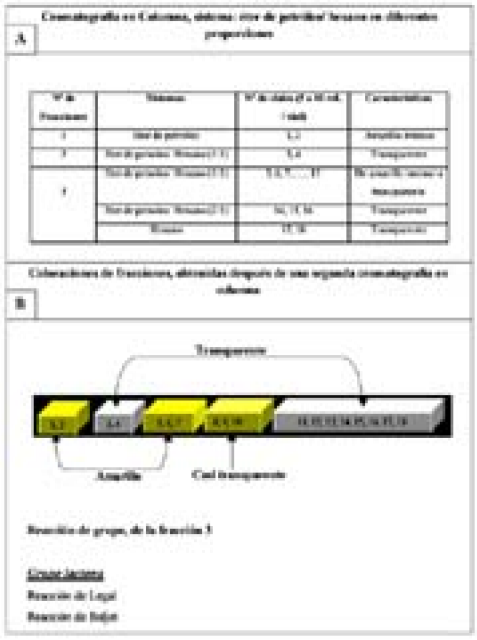


Tabla 2

2.2.1.5 Análisis espectroscópico

Espectroscopia Infrarroja (IR)

Se ha escogido la fracción 3 de la segunda cromatografía en columna por su mayor concentración, para ser analizada al IR, en equipo Nicolet con pastillas de KBr entre frecuencias de 4 000 - 500cm^{-1}, en la Unidad Servicios de Análisis Químicos (USAQ) de la Univ. Nac. Mayor San Marcos.

2.2.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO

2.2.2.1 Determinación de la toxicidad aguda

Fundamento

Consiste en determinar la dosis de una droga administrada, que produce la muerte del 50% de los animales. Se busca por tanteo, en un pequeño número de animales, la dosis aproximada que produce este efecto, luego se procede a realizar un ensayo a gran escala, sobre cuyos resultados se practican cálculos estadísticos para determinar la DL_{50}. (16, 18)

Procedimiento

a) Animales de experimentación

Se han utilizado ratones albinos machos (especie Balb-C.53) de 20 a 25 g de peso, adquiridos del Centro Nacional de producción de Bilógicos del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos), previamente acondicionados por una semana para adaptarlos al medio

ambiente del Bioterio, proporcionándole dieta balanceada, y evitando el estrés.

b) Preparación de la muestra

Se ha macerado en éter por dos semanas la fruta seca y triturada, equivalente a 2 Kg. de fruta fresca, se filtra, concentra a sequedad y pesa (3.5 g); se calienta en BM., a fin de eliminar el éter residual y eliminar interferencias en el ensayo farmacológico.

c) Descripción del método (análisis preliminar)

Se ha seleccionado tres grupos de tres ratones, a los que se les administraron dosis diferentes y progresivas del extracto puro.

La DL_{50} se establece de acuerdo a la vía de administración; la administración del extracto etéreo fue por vía oral, teniendo en cuenta de no sobrepasar de 0.5 mL, mediante catéter metálico especial, hecho de una aguja de metal Nº 18 de 2 pulgadas de longitud a la que se ha eliminado la punta en bisel, haciéndola roma y doblándola luego en ángulo obtuso. Se coge al ratón con la mano izquierda de la parte posterior del cuello, si es necesario con la ayuda de una franela, de tal manera que el vientre quede hacia arriba, y con la derecha se introduce el catéter a través del hocico y del esófago, inyectando luego la muestra. El control de la actividad espontánea y el número de muertes se ha realizado por espacio de una semana.

Grupo	Dosis (g / Kg.)
A	3.81
B	7.86
C	24.22

2.2.2.2 Actividad antiinflamatoria (Modelo Edema Pedal)

La determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto etéreo del fruto de ***Averrhoa carambola*** L, se ha realizado por medio de un pletismómetro.

Fundamento

El método del edema pedal inducido por carragenina fue descrito por primera vez por Winter et al. y posteriormente modificado por Sughisita et al. (1981). Consiste en la administración subcutánea o subplantar de una seudosolución de λ-carragenina, un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus*, a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (serotonina, histamina, bradicinina, prostaglandinas, etc.); además, diversos factores del complemento están implicados en la amplificación de la respuesta. La sustancia a evaluar se puede administrar por diferentes vías: Intraperitoneal, oral. (11, 18, 41, 66, 83)

Diseño experimental

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Sustancias	Dosis (mg/Kg)	Volumen administrado	Número de animales	Carragenina 1% (mL)
Control (agar-agar 0.1%)		2 mL	6	0.1
Estándar (en agar-agar 0.1%)	0.04	2 mL	6	0.1
	0.10	2 mL	6	0.1
	0.20	2 mL	6	0.1
Muestra (en agar-agar 0.1%)	27.50	0.5 mL	6	0.1
	55.00	1 mL	6	0.1
	137.50	2.5 mL	6	0.1
	275.00	5 mL	6	0.1

Procedimiento

a) Animales de experimentación

Se han utilizado ratas albinas machos (especie Holtzmann), adquiridas en el Centro Nacional de producción de Bilógicos del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos) con peso de 200 ± 20 g, en ayunas de 12 horas, las cuales se han mantenido en condiciones normales de humedad y temperatura en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, con alimentación ad libitum.

b) Preparación de la muestra

El extracto etéreo seco del fruto (1.1 gramo), se ha disuelto en 100 mL de una solución agar-agar 0.1%

c) Descripción del método

Se miden los volúmenes normales de la pata posterior derecha de las ratas (6 por cada grupo), previamente marcada, en pletismómetro manual.

Se administra por vía oral, volúmenes equivalentes a las dosis planteadas, del control, estándar y muestra, media hora después se administra 0.1 mL de la suspensión de carragenina al 1% en solución salina, en la aponeurosis de la pata posterior derecha de las ratas y se evalúa cada media hora, durante cinco horas.

d) Técnica de medición

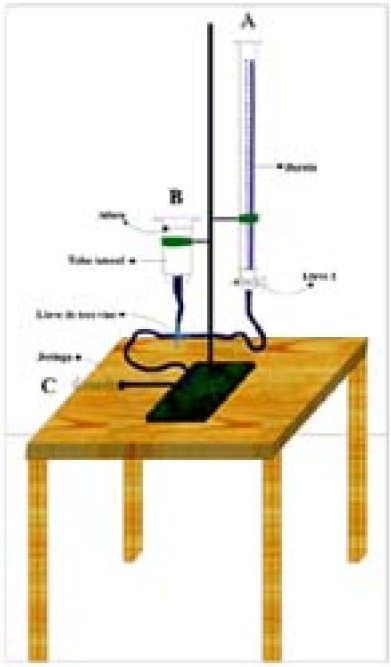
- Colocar el equipo en una superficie plana y llenar el sistema con agua (hasta el aforo de B y un volumen exacto de A), verificando que no presente burbujas de aire.

- Introducir la pata posterior de la rata, previamente marcada, haciendo coincidir ésta con el aforo de B.

- Girar la llave de tres vías, de tal modo que comunique B y C, luego con C absorber el líquido desplazado por la pata.

- Girar nuevamente la llave de tres vías, a fin de que comunique C con A, y el líquido contenido en C desplazar hacia la bureta, donde se medirá el incremento de agua, que es equivalente al edema producido en la pata (en todo momento la llave 1 se mantiene abierta).

Pletismómetro



Definición de Parámetros

En la determinación del modo de acción de un agente antiinflamatorio se consideran varias aproximaciones:

i) La inflamación producida por carragenina y al mismo tiempo contrarrestado por un antiinflamatorio, que evalúa el edema reducido como medida de efectividad del agente, que impropiamente se denomina “efecto antiinflamatorio”, en realidad edema menguado en mL.

ii) La eficiencia antiinflamatoria de un agente como la reducción porcentual del edema:

$$EAI\ \% = \frac{\frac{\Delta C}{Co} - \frac{\Delta V}{Vo}}{\frac{\Delta C}{Co}}$$

Donde

EAI %: Eficiencia antiinflamatoria (expresada en porcentaje)

$\Delta C/Co$: Incremento del edema por acción de la carragenina, en relación al volumen inicial.

$\Delta V/Vo$: Incremento del edema producido por carragenina, pero menguado por un agente, en porcentaje.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

2.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Método Análisis de Varianza (ANAVA)

El análisis estadístico del efecto y eficiencia antiinflamatoria, responde a un diseño factorial dependiente de dos factores: tratamiento (6 niveles, considera las cuatro dosis de la muestra, estándar 0.04 mg/Kg. y control) y tiempo (la duración del ensayo es de 5 horas, es decir 10 niveles de 30 min. cada uno).

A cada resultado del experimento podemos expresarlo con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: ***A*** : Tratamiento,*i* = 1, 2, …, *a*;*a* = 6 (tratamientos)

B : Tiempoj= 1, 2, …, *b*; *b* = 10 (tiempos de 30 min.)

k = 1, 2, …, *n*; *n* = 6 (número de animales por grupo)

Y_{ijk} = Volumen inflamado que queda al aplicar el i-ésimo tratamiento en el j-ésimo minuto en el k-ésimo ratón.

μ = Media general.

A_i = Efecto del i-ésimo antiinflamatorio; i = 1, 2,..., 6.

B_j = Nivel alcanzado en el j-ésimo tiempo de observación; j = 30, 60,..., 300

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción, del i-ésimo nivel del factor tratamiento en el j-ésimo minuto.

ε_{ijk} = Error aleatorio.

Método de Rangos Múltiples de Duncan

Este método se realiza solo si el análisis anterior resulta significativo; permite comparar medias (promedios) por pares de los valores de efecto y eficiencia con los rangos significativos, obtenidos a partir de los rangos estandarizados de Duncan, para luego decidir si son iguales o diferentes en efecto o eficiencia según dosis y tiempo, además de indicar el mejor tiempo y tratamiento.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

III RESULTADOS

3.1ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

3.1.1ANÁLISIS PRELIMINAR

3.1.1.1Extracto acuoso

- Ensayo físico
  - Índice afrosimétrico: Sin producción de espuma que persista por mas de media hora.
- Ensayo biológico
  - Índice hemolítico: Después de 24 horas no se observa hemólisis.
- Ensayos de coloración

– Carbohidratos

Reacción general para azúcares		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Molish	++	Anillo color violeta
Reacción general para azúcares reductores		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Fehling	++	pp. rojo ladrillo
Benedict	++	pp. rojo anaranjado
Tollens	++	Espejo de plata metálica
Reacción de diferenciación para monosacáridos y disacaridos		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Barfoed	+	pp. rojo ladrillo
Fenilhidrazina	++	Cristales en plumero (observados al microscopio)
Reacción general para pentosas		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Bertrand	++	Marrón violáceo
Allihn-Honing y Jesser	++	Rojo ladrillo
Reacción general para cetosas		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Selivanoff	++	Rojo oscuro
Reacción general para aldosas		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Berg	+	amarillo
Reacción general para Heterósidos		
Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Vainillina + H_2SO_4	+++	Anillo color violáceo

Leyenda :

+++*Abundante*

++*Moderado*

+*Leve*

(-)*Ausencia*

- Aminoácidos libres y amino grupos

Reactivos	**Reacción**	**Coloración**
Ninhidrina	+++	Morado violáceo

- Heterósidos Fenólicos

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Reactivos	Reacción	Coloración
$FeCl_3$ 5%	+++	Verde oscuro

- Taninos

Reactivos	Reacción	Coloración
$FeCl_3$ 5%	+++	Verde oscuro
Bicromato de potasio 5%	+++	Pardo rojizo
Gelatina	+++	pp. denso, blanco
Formol clorhídrico	+++	pp. rojo ladrillo

- Heterósidos Flavónicos

Reactivos	Reacción	Coloración
Shinoda	+	Rojo
Hidróxido de amonio	+	Rojo

- Vitaminas

Reactivos	Reacción	Coloración
Vitamina C		
Sol. Yodo	+++	Decoloración
Nitroprusiato de sodio	+++	pp. pardo
Vitamina B_1 (Tiamina)		
$HgCL_2$	++	pp. blanco

- Glicósidos cianogenéticos

Reactivos	Reacción	Coloración
Grignard	(-)	(-)

Leyenda:

+++Abundante

++Moderado

+Leve

(-)*Ausencia*

3.1.1.2Extracto alcohólico

· Ensayo físico

– Índice afrosimétrico: Sin producción de espuma que persista por mas de media hora.

· Ensayo biológico

– Índice hemolítico: Después de 24 horas no se observa hemólisis.

· Ensayos de coloración

– Taninos

Reactivos	Reacción	Coloración
$FeCl_3$ 5%	++	Verde oscuro
Gelatina	+	pp. denso, blanco
Formol clorhídrico	++	pp. rojo ladrillo

- Heterósidos Flavónicos

Reactivos	Reacción	Coloración
Shinoda	+	Rojo
Hidróxido de amonio	+	Rojo

- Esteroides

Reactivos	Reacción	Coloración
Kéller-Killiani	(-)	
Vainillín clorhídrico	(-)	
Liebermann Burchard	++	Azul rojizo
Ácido tricloroacético	++	Anaranjado
Ácido silicotúnstico	++	Morado violáceo

- Antraquinonas

Reactivos	Reacción	Coloración
Bortranger	(-)	

-Alcaloides

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Reactivos	Reacción	Coloración
Bouchardart o Wagner	(-)	
Dragendorff	(-)	
Popoff o ácido pícrico	(-)	
Sonnenschein o Fosfomolíbdico	(-)	
Meyer	(-)	

Leyenda:

+++*Abundante*

++*Moderado*

+*Leve*

(-)*Ausencia*

3.1.1.3Extracto etéreo

- Ensayo biológico
  - Índice hemolítico: Después de 24 horas no se observa hemólisis.
- Ensayos de coloración
  - Esteroides

Reactivos	Reacción	Coloración
Kéller-Killiani	(-)	
Vainillín clorhídrico	(-)	
Liebermann Burchard	+++	Azul rojizo
Ácido tricloroacético	+++	Anaranjado
Ácido silicotúngstico	+++	Morado violáceo
Rosenheim	++	Azul-violeta
Salkowski	++	Rojo violáceo
Rosenthaler	++	Rojo pardo

- Antraquinonas

Reactivos	Reacción	Coloración
Bortranger	(-)	

Leyenda:

+++*Abundante*

++*Moderado*

+*Leve*

(-)*Ausencia*

3.1.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Cromatograma 1.

Fenoles

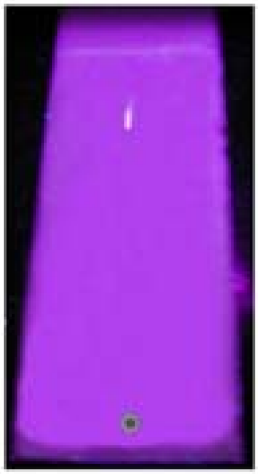


Muestra: Extracto acuoso del fruto de la especie *Averrhoa carambola* L
Soporte: Silicagel G 254
Sistema de solvente: Butanol/ácido acético/agua (4:1:5)
Revelador: Tricloruro de hierro 5%
Tiempo de resolución: 2 horas 30 min.

Cromatograma 2.

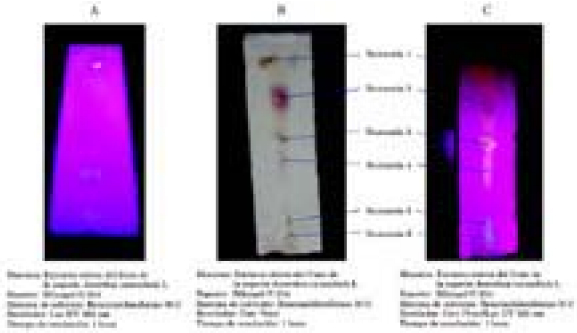
Flavonoides

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"



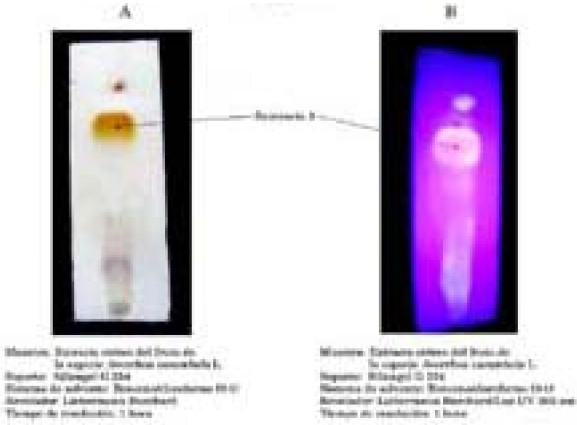
Cromatograma 3.

Esteroides



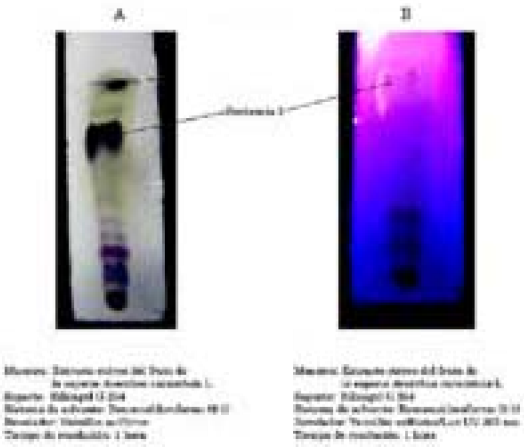
Cromatograma 4.

Esteroides



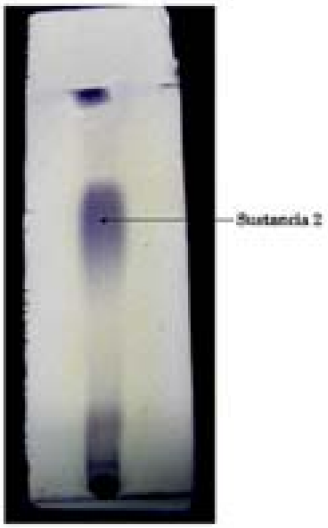
Cromatograma 5.

Esteroides



Cromatograma 6.

Esteroides

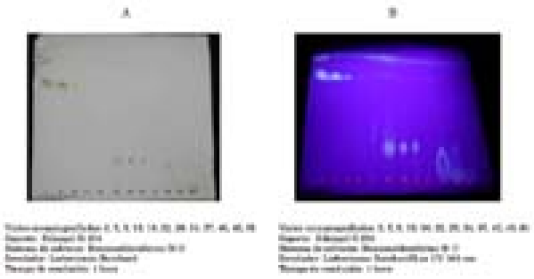


Cromatograma 7.

Esteroides.

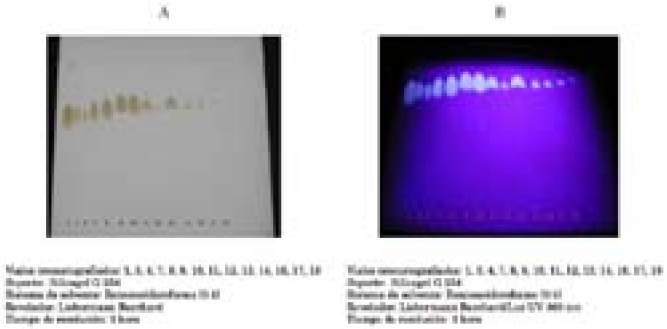
Primera fotografía en columna

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"



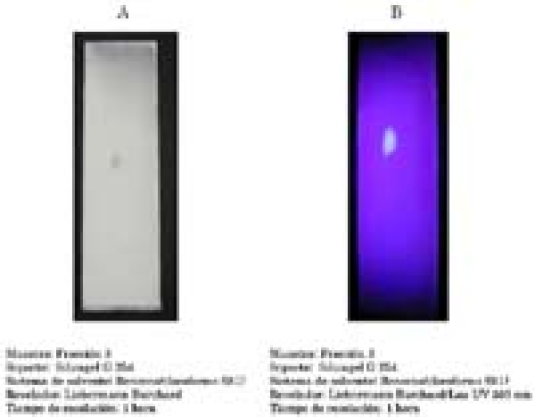
Cromatograma 8.

Esteroides.Segunda fotografía en columna



Cromatograma 9.

Esteroides.CCF de la fracción 3, de la segunda cromatografía en columna



3.1.3 ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

3.1.3.1 Espectroscopía Infrarroja (IR)

La Fracción 3, de la segunda Cromatografía en Columna en IR dan los siguientes resultados: (12, 61)

Tabla 3

Vibración (cm^{-1})	Grupos Funcionales
3437.32	**Tensión O-H.....-(OH)**
3001.41	Tensión C-H.....(=C-H)
2921.25	Tensión C-H, asimétrica del metileno.....($-CH_2-$)
1856.11	Tensión C-H, simétrica del metileno.....($-CH_2-$)
1733.78	**Tensión de doble enlace C-O.....(C=O)**
1648.60	**Tensión de doble enlace C-C.....(C=C)**
1453.19	Flexión C-H (deformación de tijera del metileno).....($-CH_2-$)
1368.02	Flexión C-H (deformación de aleteo del metileno).....($-CH_2-$)
1237.75	Vibraciones del esqueleto carbonado.....(C-C)
1162.59	Vibraciones del esqueleto carbonado.....(C-C)
711.65	Flexión C-H (deformación de balanceo).....> ($-CH_2)_4$

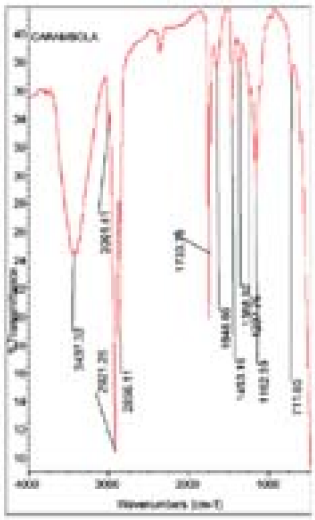
Reacción de coloración de la fracción 3

Grupo lactona

Reacción de Legal (-)

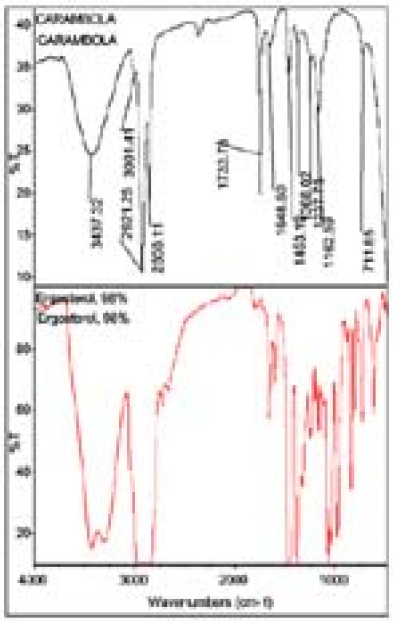
Reacción de Baljet (-)

Lectura 1. IR de la Fracción 3, de la segunda Cromatografía en Columna



Lectura 2. IR de la Fracción 3, de la segunda Cromatografía en Columna, comparado con un estándar(ergosterol)

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"



3.2 ESTUDIO FARMACOLÓGICO

3.2.1 TOXICIDAD AGUDA

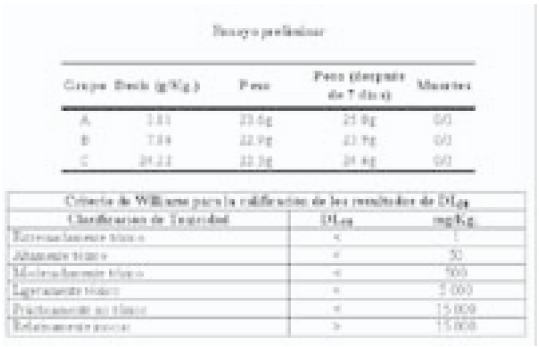


Tabla 4. Ensayo de la toxicidad aguda.

3.2.2 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA (MODELO EDEMA PEDAL)

ΔV (mL)/t (min.) [2]

T (min.)	Carragenina 1% [1] ΔV (mL)
0	0.0000
30	0.3000
60	0.6500
90	0.9000
120	1.0333
150	1.1833
180	1.2833
210	1.3167
240	1.4000
270	1.2833
300	1.1000

[1] 0.1 mL de carragenina 1% administrado por vía subplantar

[2] Δ V, Variación de volumen del edema, resultante cada 30 minutos.

Tabla 5. Efecto edematogénico producido por la inoculación de carragenina 0.1%

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

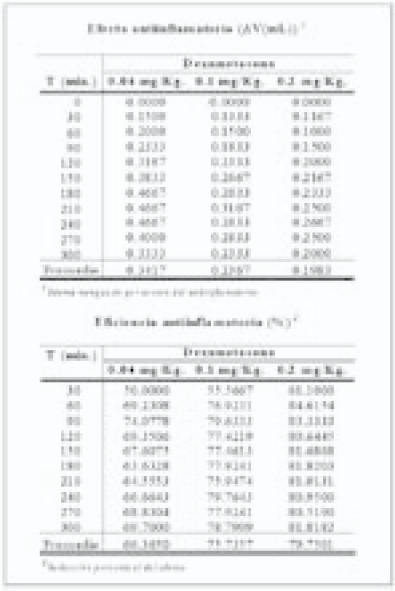


Tabla 6. Actividad antiinflamatoria del estándar según dosis

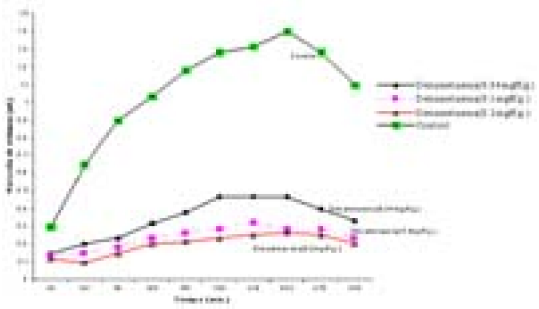


Gráfico 1. Efecto antiinflamatorio (estándar a diferentes dosis)

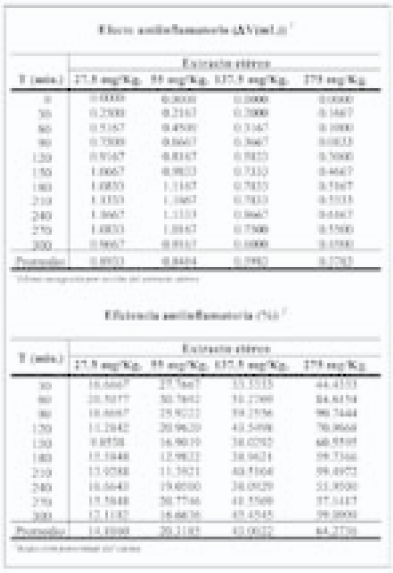


Tabla 7. Actividad antiinflamatoria de la muestra según dosis.

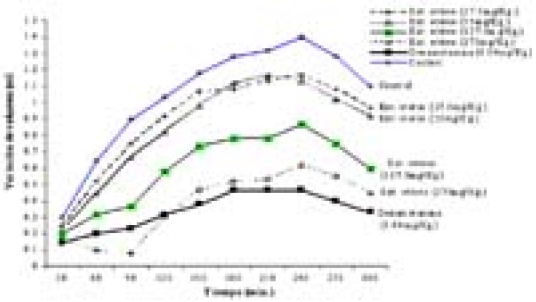


Gráfico 2. Efecto antiinflamatorio (muestra vs.estándar)

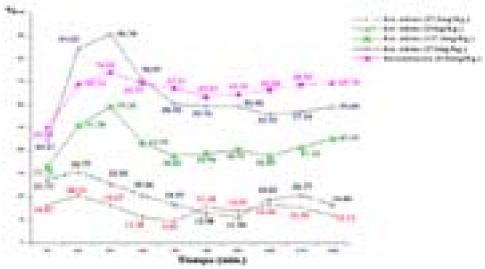


Gráfico 3. Eficiencia antiinflamatorio (muestra vs.estándar)

	Dosis (mg/Kg.)	Promedio (ΔV(ml.)) [1]
Dexametasona	0.04	0.3417
	0.10	0.2367
	0.20	0.1983
Muestra	27.50	0.8933
	55.00	0.8484
	137.50	0.5983
	275.00	0.3783

[1] Promedio de las incrementos de volumen, durante las cinco horas de mediciones

Eficiencia antiinflamatoria

	Dosis (mg/Kg.)	Promedio (%) [2]
Dexametasona	0.04	66.3650
	0.10	75.7357
	0.20	79.7501
Muestra	27.50	14.8860
	55.00	20.3185
	137.50	43.0022
	275.00	64.2736

[2] Promedio de los porcentajes, durante las cinco horas de mediciones

Tabla 8. Actividad antiinflamatoria promedio

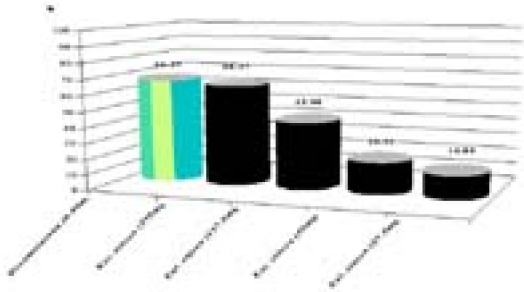


Gráfico 4. Eficiencia antiinflamatorio promedio

	Dosis (mg/Kg.)	(%)
Dexametasona	0.04	100.0000
Muestra	27.50	22.4305
	55.00	30.6163
	137.50	64.7965
	275.00	96.8486

Tabla 9. Eficiencia antiinflamatoria de la muestra con respecto al estándar

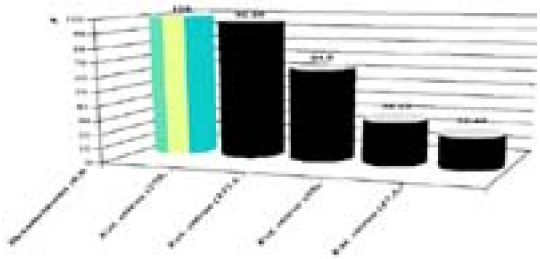


Gráfico 5. Eficiencia antiinflamatorio de la muestra con respecto a la concentración 0.04mg/kg. del estándar

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD (GL)	SUMA DE CUADRADOS (SC)[1]	CUADRADO MEDIO (CM)	F	F_{005}	P
Tratamiento	3	25.14658	5.02932	462.2557	2.2100	0.000
Tiempo	9	19.41225	2.17914	200.2886	1.8000	0.000
Interacción entre tratamiento y tiempo	45	2.70592	0.06212	5.7105	1.3730	0.000
Error	300	3.245	0.01088			
Total	359	50.41975				

Tabla 10. Método análisis de varianza de los datos del efecto antiinflamatorio 1

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD (GL)	SUMA DE CUADRADOS (SC)[1]	CUADRADO MEDIO (CM)	F	F_{005}	P
Tratamiento	4	22.957.5935	5.730.3984	189.2279	2.632	0.000
Tiempo	9	1.629.6931	181.0548	5.9694	2.165	0.000
No aditividad de la interacción	1	393.7776	391.7776	12.9169	4.125	0.000
Error	35	1.061.5716	10.1308			
Total	49	26.040.4338				

Tabla 11. Método análisis de varianza de los valores de eficiencia 2

[1,2] No se considera los datos del estándar en las dosis de 0.1 y 0.2mg/kg., ver discusión

[3, 4] ver anexo para obtener los datos

F: Estadístico F, calculado a partir de los datos de esfecto y eficiencia antiinflamatoria

F_{005}: F tabular, obtenido de la tabla de frecuencias de Fisher, con un 95% de confianza, si estadístico F > F tabular →se rechaza H_o

P: P- valor, es una probabilidad que sirve para comparar con el nivel de significancia (en este caso α= 0.05), para luego decidir si acepto o no la hipótesis nula (H_o);Si: P-

valor< α → se rechaza H_o

H_o: Hipótesis nula, considera iguales todos los valores de: tratamientos, tiempos e interacciones entre tratamientos y tiempos.

MÉTODO DE RANGOS MÚLTIPLES DE DUNCAN

Comparación de medidas por pares de los valores del efecto antiinflamatorio(ΔV(mL))

Tratamiento (mg/Kg.)		
Diferencia de medias	**Resultado de la diferencia** $(RD)^1$	**Rangos significativos** $(R_P)^2$
Prom.control − Prom.0.04	0.7033	0.042364
Prom.control − Prom.275	0.6667	0.041597
Prom.control − Prom.137.5	0.4467	0.040627
Prom.control − Prom.55	0.1967	0.039294
Prom.control − Prom.27.5	0.1517	0.037328
Prom.27.5 − Prom.0.04	0.5516	0.041597
Prom.27.5 − Prom.275	0.5150	0.040627
Prom.27.5 − Prom.137.5	0.2950	0.039294
Prom.27.5 − Prom.55	0.0450	0.037328
Prom.55 − Prom.0.04	0.5066	0.040627
Prom.55 − Prom.275	0.4700	0.039294
Prom.55 − Prom.137.5	0.2500	0.037328
Prom.137.5 − Prom.0.04	0.2566	0.039294
Prom.137.5 − Prom.275	0.2200	0.037328
Prom.275 − Prom.0.04	**0.0366**	**0.037328**

Tabla 12

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

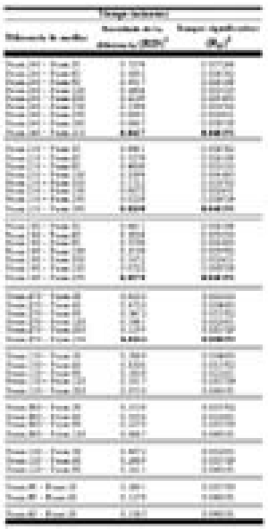
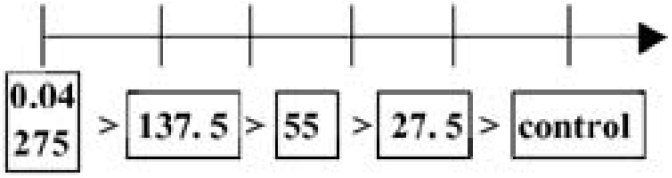


Tabla 13

1,2,3,y, 4 Ver anexo para la obtención de los datos.

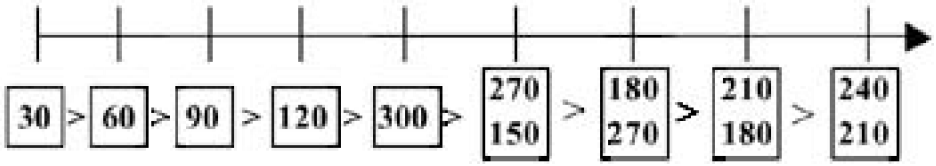
Todas las medidas son significativamente diferentes (RD>R_p), excepto en las dosis 0.04 mg/Kg y 275 mg/Kg las cuales son significativamente iguales, debido a que RD<R_p; por tanto se consideran iguales en efecto.

Orden decreciente del efecto antiinlamatorio, según dosis (mg/Kg)



Todas las medidas son significativamente diferentes (RD>R_P), excepto en los tiempos 240 y 210, 210y 180, 180 y 270, 270 y 150 min, las cuales son significativamente iguales, debido a que RD< R_P;por tanto se consideran iguales en efecto.

Orden decreciente del efecto antiinflamatorio, según tiempo (min)



MÉTODO DE RANGOS MÚLTIPLES DE DUNCAN

Comparación de medidas por pares de los valores de eficiencia(%)

Tratamiento (mg/Kg.)		
Diferencia de medias	Resultado de la diferencia (RD)[1]	Rangos significativos (Rp)[2]
Prom.0.04 – Prom.27.5	51.4790	5.379704
Prom.0.04 – Prom.55	46.0465	5.254311
Prom.0.04 – Prom.137.5	23.3628	5.081895
Prom.0.04 – Prom.275	**2.0914**	**4.827627**
Prom.275 – Prom.27.5	49.3876	5.254311
Prom.275 – Prom.55	43.9551	5.081895
Prom.275 – Prom.137.5	21.2714	4.827627
Prom.137.5 – Prom.27.5	28.1162	5.081895
Prom.137.5 – Prom.55	22.6837	4.827627
Prom.55 – Prom.27.5	5.4325	4.827627

Tabla 14

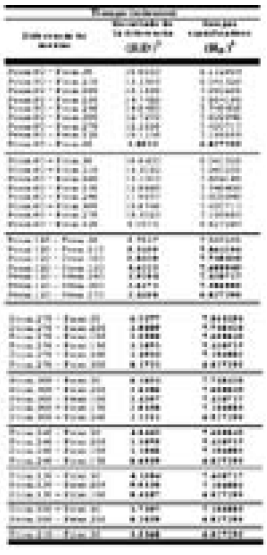


Tabla 15

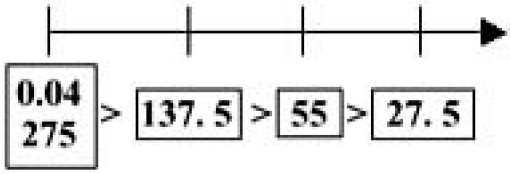
1,2,3,y 4 Ver anexo para la obtención de los datos

Todas las medidas son significativamente diferentes a excepción en las dosis 0.04 mg/kg y 275 mg/kg las cuales son significativamente iguales, debido a que RD<RP;por

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

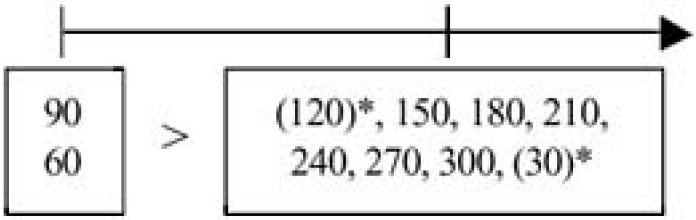
tanto se consideran iguales en eficiencia.

Orden decreciente de los datos de eficiencia,según dosis(mg/kg)



Todas las medias son significativamente diferentes a excepción en los tiempos 60 y 90 min, así como también a los 30, 120, 150, 180, 210, 240, 270, y300 min, las cuales son significativamente iguales, debido a que RD <RP;por tanto se consideran iguales en eficiencia.

Orden decreciente de los datos de eficiencia, según tiempo (min)



* par de medias diferentes(indican eficiencias diferentes)

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

IV. DISCUSIÓN

La información teórica de la especie *Averrhoa carambola* L, le atribuyen entre otras virtudes, propiedades hipoglucemiante (hojas) y antiinflamatoria (fruto), esta última sin estudios científicos que comprueben dicha actividad, la cual es uno de los objetivos del presente trabajo de investigación, en cuanto a la actividad hipoglucemiante, fue comprobada por Rosemeire, D. y colaboradores (1998), en el Departamento de Análisis Clínicos y Toxicológicos de la "Universidad de Amazonas" de Brasil.(54, 55, 68)

Dado que los esteroides incluyen sustancias tales como: esteroles, algunos alcaloides, vitaminas antirraquíticas (ergocalciferol y calcitriol), ácidos biliares, esteroides suprarrenales, heterósidos cardiacos, saponinas y venenos de sapo,(32) se ha procedido a estudiar los esteroides suprarrenales por estar mas relacionados a la actividad antiinflamatoria en el marco teórico, sobre la información farmacológica(22, 32, 40, 46, 58)

Los ensayos cualitativos preliminares en el extracto acuoso confirman la presencia de: carbohidratos con el reactivo de Molish; azúcares reductores con Fehling, Benedict y Tollens; escasa presencia de monosacáridos con Barfoed; cristales en plumero al ser observados al microscopio con Fenilhidrazina, lo que indicaría con mayor certeza la presencia de levulosa o glucosa; pentosas con Bertrand y Allihn-Honing; cetosas con el reactivo de Selivanoff, aldosas con el reactivo de Berg; presencia de heterósidos con el reactivo vainillina en medio sulfúrico; aminoácidos libres y amino grupos con ninhidrina, confirmando de esta manera la presencia de aminoácidos descritos en la parte teórica; (8, 54, 55) fenoles con tricloruro de hierro (cromatograma 1); taninos con tricloruro de hierro,

bicromato de potasio, gelatina (precipitado blanco lechoso) y con formol clorhídrico un precipitado rojo ladrillo, evidenciándose la presencia de taninos condensados; escasa presencia de heterósidos flavónicos con Shinoda, hidróxido de amonio y tricloruro de aluminio (cromatograma 2); vitamina C con solución de yodo y nitroprusiato de sodio; vitamina B1 con cloruro de mercurio (II). (19, 33, 48, 85)

En el extracto alcohólico, se evidencia taninos y flavonoides en poca cantidad, y esteroides en la fracción a (esquema 3).

En el extracto etéreo, se han encontrado compuestos con estructura esteroidal, en abundancia, con los reactivos Liebermann Burchard, ácido tricloroacético, ácido silicotúnstico, Rosenheim, Salkowski y Rosenthaler, por lo que se hicieron cromatografías del extracto, observándose fluorescencias en la parte superior e inferior de la placa antes de agregar algún revelador, tal como se muestra en el cromatograma 3A, lo que podría indicar presencia de ciertos pigmentos como clorofila o aceites esenciales insaturados, que presentan fluorescencias sin reveladores a 365 nm; las confirmaciones de esteroides se hicieron con reveladores específicos (cromatogramas 3B, 4A, 5A y 6), que a la luz UV dan diferentes coloraciones y fluorescencias después del revelado (cromatogramas 3C, 4B y 5B), previamente se ensayaron con diferentes proporciones de solventes hasta encontrar el sistema de solvente ideal; al tratar de aislar una de las sustancias se elige la número dos (cromatograma 3B), por estar en mayor concentración, realizándose cromatografía en banda, se raspa la zona de interés y se filtra con metanol, para purificarlo se practica una cromatografía bidimensional donde se comprueba que la sustancia a analizar presenta tres metabolitos superpuestos, ligeramente diferenciados; por todo esto, se elige cromatografía en columna, adaptando un procedimiento particular de acuerdo a las características del metabolito frente a diferentes solventes, en la primera cromatografía en columna se obtiene diferentes fracciones (Tabla 1, cromatograma 7), se escoge la fracción 1 por presentar el metabolito de interés, al cual se practica cromatografía bidimensional encontrándose tres sustancias superpuestas, se realiza una segunda cromatografía en columna (Tabla 2A, cromatograma 8), esta vez con diferentes proporciones del sistema éter de petróleo/hexano; obteniéndose 3 fracciones (tabla 2B), se envía a leer al Infrarrojo la tercera fracción por presentar mayor pureza y concentración (cromatograma 9), con lecturas características para grupos funcionales presentes en estructuras esteroidales ((OH) a 3 437.32 cm^{-1}, (C=O) a 1 733.78 cm^{-1} y (C=C) a 1 648.60 cm^{-1}), como se muestra en las lecturas 1, 2 y tabla 3; probablemente se trate de un esterol o un triterpeno pentacíclico con actividad antiinflamatoria, debido a la negatividad de la fracción 3 de la segunda columna, con las reactivos de Legal y Baljet para grupos lactona de cardiotónicos, además por la negatividad de la reacción de hemólisis para saponinas, de los diferentes extractos; se ha logrado aislar el compuesto mayoritario quedando pendiente la realización de una Resonancia Magnética Nuclear (RMN), para dilucidar la estructura esteroidal del compuesto mayoritario. (12, 48, 61)

Para el estudio farmacológico se ha empleado el extracto etéreo, debido a la presencia mayoritaria de esteroides; en relación al ensayo de toxicidad aguda, no se han presentado signos de toxicidad, ni muerte de los animales, evidenciándose aumento de peso durante los siete días posteriores a la administración, considerándose por tanto inocua de acuerdo al criterio de clasificación de Williams (DL_{50} > 15 g/Kg., relativamente

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

inocuo) (tabla 4).

En el ensayo de la actividad antiinflamatoria, se ha elegido el pletismómetro por presentar mayor exactitud en la medida de la inflamación, pues mide todo el volumen del órgano inflamado, y no solo el diámetro como en la técnica que usa el anillo micrométrico.

La inflamación inducida ha sido de tipo agudo, con formación de exudado, rico en proteínas plasmáticas, lípidos y detritos celulares, donde intervienen fundamentalmente los leucocitos polimorfonucleares como células inflamatorias, después de dos horas de inyectado el agente, así como también mediadores inmediatos (una hora después de la administración) como por ejemplo histamina y serotonina. Aproximadamente una hora y media a dos horas y media después de inyectada carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por las prostaglandinas, fundamentalmente PGE_1, PGE_2 y PGF_2. La respuesta vascular máxima ocurre a cuatro horas de administrada la carragenina, que coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. Se ha preferido trabajar con carragenina ante otros agentes irritantes porque el edema que se produce está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este test, guarda correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica. (18, 83)

Mediante el ensayo experimental: método edema pedal inducido por carragenina, se ha comprobado el efecto antiinflamatorio del extracto etéreo, durante 5 horas de observación, por tanto se considera que la actividad antiinflamatoria del extracto etéreo, depende de la presencia y concentración de los seis metabolitos evidenciados por cromatografía, probablemente la acción marcada la ejerce el compuesto mayoritario aislado, identificado como compuesto tipo esteroidal (oxasterol, nombre sugerido).

Se ha preferido trabajar con dexametasona como estándar, por su similitud estructural con el compuesto mayoritario presente en la muestra, por su mayor efecto antiinflamatorio ante otros glucocorticoides de vía oral, y por suprimir la respuesta inflamatoria producida por diferentes agentes edematógenos como: rayos UV, aceite de crotón, formaldehido, carragenina, mostaza, dextrano, albúmina de huevo, etc. En la evaluación del estándar (dexametasona) a diferentes dosis, se ha seleccionado la de 0.04 mg/Kg., por ser dosis presente habitualmente, no presentar efectos adversos preponderantes, y como se observa en el gráfico 1, con curva muy cercana a las dosis 0.1 mg/Kg. y 0.2 mg/Kg. (46)

El efecto antiinflamatorio de la muestra se comprueba en el gráfico 2, donde las dosis 137.5 mg/Kg. y 275 mg/Kg. presentan mayor efecto ante concentraciones de 27.5 mg/Kg. y 55 mg/Kg.; la variabilidad de pesos y las características inherentes al material biológico (180-220 g), han influido en los resultados de los valores medios obtenidos en el efecto antiinflamatorio.

El gráfico 3, indica la eficiencia antiinflamatoria a través del tiempo, observándose una mayor eficiencia de 84.62% y 90.74% a 60 y 90 minutos respectivamente a dosis de 275 mg/Kg. de la muestra.

En el gráfico 4, se aprecia el promedio de la eficiencia antiinflamatoria, donde la dosis de 275 mg/Kg. posee eficiencia (64.27%) muy cercana al estándar (66.37%).

El gráfico 5, muestra la eficiencia relativa de la muestra con respecto al estándar dexametasona (0.04 mg/Kg.), variando de 22.43% a 96.85%.

Con los datos obtenidos de las tablas de análisis de varianza (ANAVA) en relación a efecto y eficiencia antiinflamatoria con 95% de confianza (tablas 10 y 11), se concluye que se rechazan las hipótesis nulas, aceptándose que hay diferencias entre tratamientos, tiempos e interacciones como hipótesis alternativa, debido a que los estadísticos F son mayores a sus respectivos F tabulares y el P-valor (0.000) es menor que el nivel de significancia ($\alpha = 0.05$) que indican, que las diferencias antes mencionadas son altamente significativas, por lo que se ha tenido que realizar la comparación de medias por pares de los datos de efecto y eficiencia, siendo esta última más representativa por estar en porcentaje (relacionado con el grupo control) y así obtener el mejor tratamiento y tiempo; mediante el método de rangos múltiples de Duncan, se determinó que las dosis de dexametasona (0.04 mg/Kg.) y muestra (275 mg/Kg.) a los 60 y 90 minutos, presentan mayores e iguales eficiencias en el proceso inflamatorio (tablas 14 y 15); además las dosis 0.04 mg/Kg. y 275 mg/Kg. a los 30, 60 y 90 minutos poseen mayores e iguales efectos antiinflamatorios (tablas 12 y 13) y ordenados de manera descendente son: dexametasona (0.04 mg/Kg.), muestra (275 mg/Kg.) > muestra (135.5 mg/Kg.) > muestra (55 mg/Kg.) > muestra (27.5 mg/Kg.).[34, 51, 71]

Con respecto a las eficiencias antiinflamatorias de las especies vegetales realizadas en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM: Dioscorea larecajensisUline ex Knuth. “Maretullma” (83.63%),[2] *Uncaria tomentosa* “Uña de gato” (83.3%,),[62]Lupinus condensiflorus C.P. Smith “Talabra” (79.81%),(11) Proteoglicanos del Cartílago de Tiburón (29.78%, 37.9% y 71.36%),(30)*Cestrum auriculatum* “Yerba santa” (48.70% y 50.58%),[1] micropulverizados, liofilizados y atomizados de *Uncaria tomentosa* “Uña de gato” de venta en el mercado (22.09% a 39.17%),[66] Plantago mayor (30.8%),(47)Grias peruviana Miers “Sacha mango” (12.11% a 29.05%), [41] y otras, por comparación se deduce que, la especie *Averrhoa carambola* L, posee eficiencia antiinflamatoria intermedia entre los proteoglicanos del Cartílago de Tiburón y la especie*Cestrum auriculatum* “Yerba santa”.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

CONCLUSIONES

- Mediante el estudio farmacognóstico del fruto, se ha comprobado la presencia de carbohidratos, vitaminas B1 y C, aminoácidos libres y amino grupos, compuestos fenólicos, taninos condensados y flavonoides en el extracto acuoso; taninos, flavonoides y compuestos con estructuras esteroidales en el extracto alcohólico y en el extracto etéreo se ha logrado aislar un compuesto tipo esteroidal (oxasterol) en espera de elucidación.

- El extracto etéreo de la muestra, no presenta toxicidad, en las dosis de 3.81 mg/Kg., 7.86 mg/Kg. y 24.22 mg/Kg. de peso, considerándose inocua, según el criterio de Williams.

- Las diferentes dosis administradas del extracto etéreo por vía oral, poseen eficiencias antiinflamatorias: 14.89% (27.5 mg/Kg.), 20.32% (55 mg/Kg.), 43.00% (137.5 mg/Kg.) y 64.27% (275 mg/Kg.); los valores relativos de eficiencia antiinflamatoria con respecto al estándar dexametasona (66.37%), varía de 22.43% a 96.85%.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

RECOMENDACIONES

Fomentar la investigación de productos vegetales con valor medicinal, por ser fuente importante de metabolitos activos para el alivio de enfermedades, impulsando su utilización.

Continuar el estudio farmacognóstico y farmacológico de la especie *Averrhoa carambola* L, para otorgarle base científica a otras propiedades medicinales que se le atribuyen.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

BIBLIOGRAFÍA

Aguado, I. 1997. Estudio fitoquímico, Determinación de la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de Cestrum auriculatum L'heritier "Hierba santa". (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Amanzo, E. 1994. Estudio Fitoquímico y acción Antiinflamatoria de Dioscorea larecajensis Uline ex Knuth. "Maretullma". (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos.

American Chemical Society. 1999. Carambola. http://www.bonsaibci.com/species/carambola.html.

Anderson, W. y Scotti, T. 1989.Anatomía Patológica Básica. Novena edición. Ediciones Toray, S.A. Barcelona-España.

Balkach, A. 1994. Las Frutas en la Medicina Natural. Primera edición. Editorial "La verdad presente". Lima-Perú.

Baumes. R.; Wirth, J. y col. 2002. Biogeneration of C-13 Norisoprenoid Compounds: Experiments supportive for an Apo-carotenoid in Grape Vines. Analitica Chimica Acta. Vol. 458: 3-14.

Beato, M. 1999. Hormonas Esteroides, Transducción de Señal, Expresión Génica y Cáncer Ginecológico. Medicina Clínica. Vol. 112: 745-752.

Brack, A. 1999. Diccionario Enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Pampa de la Alianza. Cusco-Perú.

Bruneton, J. 2001.Farmacognosia. Segunda edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España.

Cabieses, F. 1995. Cien Siglos de Pan. Primera edición. A&B S.A. Lima-Perú.

Cáceres, H. y Gamarra, E. 1999. Estudio Fitoquímico y determinación de la Actividad Antiinflamatoria de Lupinus condensiflorus C.P. Smith "Talabra". (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Calderón, J. y Avendaño, R. 1979. Espectroscopía Infrarroja. Primera edición. Editorial Alhambra, S.A. Madrid-España.

California Department of Food and Agriculture. 2000. Averrhoa carambola L. http://www.cdfa.ca.gov/phpps/pe.

California Rare Fruit Growers Publications. 1996. Carambola. http://www.crfg.org/pubs/ff/carambola.html.

Centro de Estudios e Investigación Reumatológica. 1987. Inmunología y Reumatología. Tercera edición. Editorial UNMSM. Lima-Perú.

Cotillo, P. y Rojas, R. 1990. Métodos Farmacológicos en la Investigación de Productos Vegetales. Editorial Gráfica "Jiménez" E.I.R.L. Lima-Perú.

Cotran, R.; Kumar, V. y Collins, T. 2000. Robbins, Patología Estructural y Funcional. Sexta edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid-España.

CYTED. 1995. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de técnicas de investigación.

Domínguez, X. 1989. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México.

Ecología, Invernadero Evolutivo de la Biología. 2002. Averrhoa carambola L. http://florawww.eeb.uconn.edu.; http://biodiversity.uno.edu/delta/.

Ellis, L.; Gilston, V. y col. 2000. Activation of the Transcription Factor NF-#B in the rat air pouch Model of Inflamation". Annals of the Rheumatic Diseases. Vol. 59: 303-306.

Elson, Ch. 1996. The Basis of current and future Therapy for Inflamatory Bowel Disease. The American Journal of Medicine. Vol. 100: 656-662.

Escuela de Vinicultura, Uruguay. Proyecto Tannat. http:// www.csic.edu.uy.

Facultad de Ciencias de la Universidad de Castilla-La Mancha, España. 2000. Análisis de los Volátiles Varietales en Mostos / Vinos, de las Variedades Moscatel, Macabeo, Airen y Cecibel. http://www.eurojay.com/jai99/resumenes.

Facultad de Ciencias de la Universidad de Vigo, España. 2000. Experiencias de Vinificación en Madera de Roble de la Variedad Gallega Treixadura. http:// www.eurojay.com/jai99/resumenes.

Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza, España. 2000. Moléculas Odoríferas. http:// www.acenología.com

Faucon, P. 2000. Star Fruit. http://www.desert-tropicals.com/Plants/ Oxalidaceae/Averrhoa_carambola.html.

Filella, X. y Zarco, M. 1999. Citocinas: del Laboratorio a la Clínica. Medicina Clínica. Vol. 113: 22,23.

Font Quer, P. 1995. Botánica Pintoresca. Editorial Ramón Sopena S.A. Barcelona-España.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Galindo, H. y Meza, L. 2000. Determinación del efecto antiinflamatorio de los Proteoglicanos aislados del Cartílago de Tiburón. (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Garcia, H. 1992. Flora Medicinal de Colombia. Segundo tomo. Segunda edición. Tercer mundo editores. Bogotá-Colombia.

Gennaro, A.; Chase, G. y col. 1985. Remington Farmacia. Décima séptima edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires-Argentina.

Gibaja, S. 1977. Guía para el análisis de los Compuestos del Carbono. Primera edición. Dirección Universitaria de Biblioteca y Publicaciones de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

Gomez, K. y Gomez, A. 1984. Statistical procedures for Agricultural Research. Segunda edición. Filipinas-U.S.A.

Grupo de Consejo del Colegio Médico del Perú. 1995. Comité de Expertos para Analizar el uso Racional de Antiinflamatorios No-esteroideos. Lima-Perú.

Hardman, J. 1996. Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México D.F.-México.

Hascelik, G.; Sener, B. y Hascelik, Z. 1994. Effect of some Anti-inflamatory Drugs on Neutrophil Chemotaxis. International Medical Research. Vol. 22: 100-106.

Heilmer, C. 1964. La Inflamación. Ediciones Toray, S.A. Barcelona-España.

Isaza, M. 1997. Fundamentos de Farmacolgía en Terapéutica. Tercera Edición. Editorial Postergraph. Medellín-Colombia.

Katzung, B. 2001. Farmacología Básica y Clínica. Séptima Edición. Editorial el Manual Moderno. México D.F.-México.

Kodaka, R. y Miyashiro, G. 1998. Estudio Fitoquímico, determinación de la Actividad Antimicrobiana y Antiinflamatoria de Grias peruviana Miers “Sacha mango”. (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Ediciones Omega. Barcelona-España.

Kumar, V; Cotran, R y Robbins, S. 1995. Patología Humana. Quinta edición. Interamericana. Mc Graw Hill. Mexico D.F.-Mexico.

Leffingwell, J. 1999. Alkenoles, Alkadienoles y Estructuras Moleculares. http://www.leffingwell.com/alkenol.

Liogier, H. 1990. Plantas Medicinales de Puerto Rico y del Caribe. Primera edición. Iberoamericana. San Juan-Puerto Rico.

Litter, M. 1995. Compendio de Farmacología. Cuarta edición. Editorial “El Ateneo”. Buenos Aires-Argentina.

Loayza, D. 1991. Efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de Plantogo mayor “Llanten”. (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Loock, O. 1994. “Investigación Fitoquímica”. Primera Edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica. Lima-Perú.

Manfred, L. 1991. Siete mil Recetas Botánicas a base de mil trescientas Plantas Medicinales. Décima primera edición. Kier S.A. Buenos Aires-Argentina.

Melo-Gomez, J. 1993. Problems Related to Systemic Glucocorticoid Therapy in

Children. Perspectives in Pediatric Rheumatology. Vol. 20: 35-39.

Montgomery, D. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Tercera edición. Grupo Editorial Iberoamérica. Arizona-U.S.A.

Moreland, L. y Clair, S. 1999. The use of Analgesics in the Management of Pain in Rheumatic Disease. Rheumatic Disease Clinics of North America. Vol. 25: 153-164.

Morton, J. 1981. 500 Plants of South Florida. Segunda edición. Miami-U.S.A.

---------- 1987. Carambola. Actualizado 4/2/99. http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/carambola.html.

---------- 1987. Frutas de Climas Calientes. Creative Resources Systems. Miami-U.S.A.

Mostacero, J.; Mejía, F. y col. 2002. Taxonomía de las Fanerógamas útiles en el Perú. Editora Normas Legales S.A.C. Trujillo-Perú.

Murray, R.; Granner, D. y col. 1994. Bioquímica de Harper 13ª edición. Editorial el Manual Moderno, S.A. Mexico D.F.-Mexico.

Page, Cl.; Curtis, M. y col. 1998. Farmacología Integrada. Edición Harcourt. Madrid-España.

Palazzo, E. 1999. How should Rheumatologists presribe low-dose Glucocorticoids?. Revue Du Rhumatisme English Edition. Vol. 66: 127-130.

Panush, R. 2000. Complementary and Alternative Therapies for Rheumatic Diseases II. Rheumatic Disease Clinics of North America. Vol. 26: 40-45.

Pasto, D. 1974. Determinación de Estructuras Orgánicas. Editorial Reverté. Barcelona-España.

Peralta, M. y Zambrano, H. 1992. Efecto Antiinlamatorio del extracto glicosídico de Uncaria tomentosa “Uña de gato”. (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Perazella, M. 2001. COX-2 Inhibitors and the Kidney. Hospital practice. Vol. 36: 43-46.

Pérez, R. 1991. Principios de Patología. Editorial Médica Panamericana, S.A. México D.F.-México.

Randerath, K. 1970. Cromatografía en Capa Fina”. Enciclopedia de la Química Industrial. Tomo VIII. 2° Edición. Editorial Urmo, S.A. Bilbao-España.

Rengifo, D. y Gomez, E. 1997. Estudio comparativo del efecto Antiinflamatorio de varias muestras de Uncaria tomentosa Wild DC., de venta en el mercado. (Tesis título). Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

Rojas, W. 1999. Inmunología. Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín-Colombia.

Rosemeire, C.; Dalla, M. y col. 2000. Actividad Hipoglicémica del Averrhoa carambola L., usada en Manaos como Antidiabética. http://www.newslab.com.br.

Rubin, E. y Farber, J. 1990. Patología. Editorial médica panamericana. México D.F.-México.

Schaible, H. y Vanegas, H. 2000. How do we manage Chronic Pain?. Clinical Rheumatology. Vol. 14: 797-809.

Snedecor, G. y Cochran, W. 1969. Statistical Methods. The Iowa State University

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Press. Ames, Iowa, U.S.A.

Solomon, D. y Gurwitz, J. 1997. Toxiciy of Nonsteroidal Anti-inflamatory Drugs in the Elderly: is advanced age a Risk Factor?. The American Journal of Medicine. Vol. 102: 208-213.

Stahl, E. 1965. Thin-Layer Chromatography. Academic Press Inc Publishers. New York-U.S.A.

Strasburger, E., Noll, F. y Schimper, A. 1985. Tratado de Botánica. Séptima edición española. Barcelona-España.

Strasburger, E., Noll, F. y Schimper, A. 1994. Tratado de Botánica. Octava edición castellana. Ediciones Omega S.A. Barcelona-España.

Streitwieser, A. y Heathcock, C. 1991. Química Orgánica. Tercera edición. Mc Graw-Hill / Interamericana de Mexico, S.A. Mexico D.F.-Mexico.

Takano, T. y Cybulsky, A. 2000. Complement C5b-9 mediated Arachidonic acid metabolism in Glomerular Ephitelial Cells". The American Journal of Pathology. 156; 2091:2100.

Trade Winds Fruit. 2002. Star Fruit. http://www.tradewindsfruit.com/star_fruit.

Tropilab®INC. Averrhoa carambola. http://www.tropilab.com/carambo.

Velásquez, L. 1979. Farmacología y su proyección Clínica. Editorial Ateo. Madrid-España.

Vink, A., Schouten, S. y col. 1998. A newly discovered Norisoprenoid; 2, 6, 15, 19 Tetramethylicona in Cretaceous Black Schales. Geochimica et Cosmochimica Acta. Vol. 62: 965-970.

West, J. 1998. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. Doceava edición. Editorial Médica Panamericana. Tlalpan-Mexico.

Winter, C., Risley, E., and Nuss, G. 1962. Carrageeninn-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. Proc. Soc. Exp. Biol.Med. Vol: 111: 544-550.

Winterhalter, P. 1993. C-13 Norisoprenoid Flavour Compounds: Studies about the Biogenetic Precursors of Isomeric Edulans and Megastigmatrienes. http://www.zv.uni-wuerzburg.de/forschungsbericht.

Zarate, R., Gorriti, A. y col. 1993. Manual de Farmacognosia y Productos Naturales Terapéuticos. Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima-Perú.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

ANEXO



MUSEO DE HISTORIA NATURAL

CONSTANCIA Nº 039-USM-02

La inflamación aguda posee tres componentes principales:

1. Modificaciones en el calibre de los vasos, que dan lugar al aumento en el flujo de sangre y en la luz vascular: activación endotelial, marginación, rodamiento y adhesión.

2. Alteraciones en la estructura de la microvasculatura, que permiten la salida de la circulación de las proteínas plasmáticas y los leucocitos (diapédesis o transmigración).

3. Emigración de los leucocitos, desde el punto en el que abandonan la microcirculación hasta el foco de lesión en el que se acumulan, [4, 17, 43] en la secuencia de los siguientes acontecimientos:

Quimiotaxis, donde los leucocitos siguen una locomoción orientada, según un gradiente químico (granulocitos, monocitos y en menor grado linfocitos, responden a estímulos quimiotácticos), es decir, la dirección de este movimiento está determinada por sustancias que se encuentran en el medio; la activación de los leucocitos (figura 2), produce respuestas como:

- Producción de metabolitos del ácido araquidónico.

- Degranulación y secreción de enzimas lisosomales, y activación del estallido oxidativo.

- Modulación de las moléculas de adhesión leucocitaria

Fagocitosis, entendida como la capacidad de ingerir y digerir partículas, se lleva a cabo a través de tres pasos distintos, pero relacionados entre sí:

-Reconocimiento y fijación de la partícula que va a ser ingerida por el leucocito.

-Englobamiento de la partícula, con formación posterior de una vacuola fagocitaria.

-Destrucción o degradación del material fagocitado. [17, 43, 63, 82]

La **inflamación crónica**, posee duración prolongada (semanas, meses o años), eminentemente proliferativa, puede evolucionar desde un cuadro de inflamación aguda, en la que se pueden observar signos de inflamación activa, destrucción tisular e intentos de curación simultánea, con inicio insidioso. Se observa en algunas enfermedades incapacitantes (p. ej., artritis reumatoidea, aterosclerosis, tuberculosis y neumopatías crónicas), y entre las células que participan se encuentran: macrófagos, linfocitos, plasmocitos, mastocitos, eosinófilos, células epitelioides, células gigantes (p. ej., células langhans) y fibroblastos; predominando los tres primeros en este tipo de inflamación. [4, 69]

Las **características** de este tipo de inflamación son:

-Infiltración por células mononucleares (macrófagos, linfocitos y células plasmáticas).

-Destrucción tisular, inducida principalmente por células inflamatorias.

-Intentos de reparación, mediante sustitución del tejido lesionado por tejido conjuntivo, con proliferación de vasos (angiogénesis) y fibrosis. [17]

Los **vasos y ganglios linfáticos en la inflamación**, junto al sistema mononuclear fagocítico, constituyen la segunda línea de defensa, cuando la inflamación local no es capaz de contener y neutralizar la lesión. En la inflamación aumenta el flujo linfático, que ayuda a drenar el líquido que proviene del edema localizado en el espacio extracelular (figura 3A).A la linfa no sólo pasa líquido, sino también pueden hacerlo los leucocitos y detritos celulares. En las lesiones graves, el drenaje puede transportar al agente causal, ya sea químico o bacteriano, como consecuencia los vasos linfáticos pueden inflamarse

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

(linfangitis) y también los ganglios linfáticos (linfadenitis). (17)

Los mediadores químicos de la inflamación, son los responsables de los acontecimientos que desencadenan la inflamación. Existen mediadores derivados del plasma (p. ej., complemento, bradicinina, trombina, factor X, fibrinopéptidos), que están presentes en el plasma como precursores, y deben ser activados; así como también, mediadores derivados de las células, que permanecen normalmente secuestrados en gránulos intracelulares y deben ser secretados (p. ej., histamina en gránulos de mastocitos, serotonina) o por síntesis en respuesta a un estímulo (p. ej., prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas, factor activador de plaquetas (PAF), óxido nítrico, citocinas y quimiocinas) (figuras 3B y 4B); existiendo además relación entre los cuatro sistemas mediadores plasmáticos (cininas, coagulación, fibrinolítico y complemento) en la inflamación (figura 4A). Las principales células que secretan o sintetizan mediadores son: plaquetas, neutrófilos, monocitos / macrófagos y mastocitos. (15, 17, 28, 36, 60, 77)

Los **patrones morfológicos** de la inflamación aguda y crónica son:

-**Inflamación serosa**, marcada por la salida de un líquido que, dependiendo de la zona de lesión, se deriva del suero sanguíneo o de las secreciones de células mesoteliales que revisten las cavidades peritoneal, pleural o pericárdica (p. ej., ampolla dérmica). (4, 43)

-**Inflamación fibrinosa**, cuando moléculas más grandes atraviesan la barrera vascular, como el paso de moléculas de fibrinógeno que, produce un exudado inflamatorio fibrinoso, característico de la inflamación en las cavidades corporales como el pericardio y la pleura. (4, 43)

-**Inflamación purulenta o supurativa**, se caracteriza por la producción de grandes cantidades de pus o exudado purulento, como las causadas por algunos microorganismos (p. ej., estafilococo) que producen supuración localizada y por lo tanto se denominan bacterias piógenas (productoras de pus). Un ejemplo usual de inflamación supurativa, es la apendicitis aguda. Los abscesos son colecciones localizadas de pus. (4, 43)

-**Úlcera**, es un defecto local, o una excavación, de la superficie de un órgano o tejido que se produce por descamación de tejido necrótico inflamatorio; se presenta únicamente, cuando existe un área inflamatoria necrótica sobre o cerca de la superficie. En la etapa aguda, existe infiltración extensa de polimorfonucleares y dilatación vascular en los márgenes del defecto. Con la cronicidad, los márgenes y la base de la úlcera, desarrollan proliferación fibroblástica, cicatrización y acumulación de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. (43)

Los **efectos sistémicos de la inflamación**, pueden presentarse como, **fiebre,** debido a la presencia de citocinas (IL-1, IL-6, TNF-α e interferones), producidas por los leucocitos y otros tipos de células en respuesta a los agentes invasores, que al liberarse actúan como pirógenos endógenos primarios, acompañado de efectos endocrinos y metabólicos (producción de proteínas secretadas por el hígado, como por ejemplo: proteína C reactiva, amieloide sérico A, etc), autónomos (aumento del flujo sanguíneo, frecuencia del pulso, presión arterial y disminución de sudoración) y conductuales (temblor, escalofríos, anorexia, somnolencia, etc). La **leucocitosis**, se presenta cuando el

recuento leucocitario aumenta hasta 15 000 ó 20 000 células/mL, y en ocasiones pueden llegar de 40 000 a 100 000 células/mL., estas elevaciones extremas se denominan reacciones leucemioides, debido a que son parecidos al recuento leucocitario en la leucemia. Este incremento se debe a la liberación acelerada y proliferación de células de la médula ósea inducido por mediadores como: IL-1, TNF, CSF, etc. (17)

Los **antiinflamatorios no esteroideos (AINEs),** son un grupo de fármacos ampliamente empleados gracias a sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antipiréticas e inhibidores de la función plaquetaria. En cuanto a su **mecanismo de acción**, actúan inhibiendo la ciclooxigenasa (COX), provocando a su vez inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas; existen dos formas distintas de COX (COX-1 y COX-2), ambas son inhibidas por los AINEs, pero codificadas por distintos genes, la COX-1 por un gen localizado en el cromosoma 9 (sin espacios ligados a la producción de otras sustancias que no sea la COX-1) y la COX-2 por un gen ubicado en el cromosoma 1 (con espacios ligados con la producción de otras sustancias como: citocinas, factor de crecimiento y hormonas). Los inhibidores COX-2 selectivos, actúan uniéndose a estructuras características que están ausentes en COX-1, la posición 120 de ambas isoformas poseen arginina al cual se unen los inhibidores COX no específicos, bloqueando de esta manera al sustrato natural de estas enzimas (ácido araquidónico); por otra parte la posición 523 de COX-1 posee isoleucina y COX-2 valina, manifestándose en esta última un receptáculo lateral, al que sólo se pueden unir agentes selectivos COX-2 (figura 5). La COX-1 es la forma no inducible (constitutiva – mantiene la función normal de las células), posee una secuencia más corta de aminoácidos y favorece la producción de prostaciclina, que tiene efecto antitrombogénico y efecto citoprotector sobre la mucosa gástrica. La inhibición de esta isoenzima (COX-1) esta asociada con la presencia de efectos colaterales, en especial irritación de la mucosa gástrica y efectos tóxicos a nivel renal. La forma inducible (COX-2) es sintetizada cuando los macrófagos y otras células inflamatorias son activadas en respuesta a mediadores inflamatorios, recientemente se ha demostrado ser constitutiva en algunos órganos como: pulmón, cerebro y riñones; la COX-2, en el riñón, posee función hemodinámica, como balance hidroelectrolítico renal, entonces, tanto los inhibidores de COX-2 como los AINEs no selectivos tradicionales, están asociados a cierta toxicidad renal (hiperkalemia y retención de agua). En otros tejidos, donde su producción es exagerada, su inhibición es necesaria para que los AINEs ejerzan su actividad antiinflamatoria. Compuestos como piroxicam, fenoxicam, diclofenaco sódico, ácido acetilsalicílico y ácido tiaprofénico inhiben la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares. Inhiben también la producción de radicales superóxidos, inducen la apoptosis, inhiben la expresión de las moléculas de adhesión, disminuyen la óxido nítrico sintasa por inhibición del factor nuclear de transcripción (NF-kB), y los niveles de citocinas proinflamatorias (p. ej., TNF-α, IL-1), modifican la actividad de los linfocitos y alteran las funciones de la membrana celular. (32, 35, 37, 52, 58, 63, 70, 72)

Las acciones farmacológicas de los AINEs son:

-**Efecto analgésico y antipirético,** a nivel periférico, suprimiendo el dolor inducido químicamente; modificando o alterando la transmisión o percepción de estímulos dolorosos. Los AINEs aplicados intratecalmente, producen actividad antinociceptiva que

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

disminuyen los signos de hiperalgesia (inducidos por receptores de sustancia P y glutamato) interfiriendo el procesamiento intraespinal de la información nociceptiva; Interfiere en el mecanismo excitatorio, favoreciendo la acción del ácido kinurémico como antagonista endógeno que bloquea la activación de receptores glutamato tipo NMDA (N-metil aspartato), activadores del circuito excitatorio del dolor. (35)

-**Efecto sobre la función plaquetaria**, Disminuyendo la agregación plaquetaria por inhibición de la ciclooxigenasa, con excepción de la aspirina, este efecto es reversible, debido a que las plaquetas no son capaces de sintetizar ciclooxigenasa adicional, la acetilación irreversible de esta enzima por la aspirina, persiste hasta que se reemplazan por plaquetas recién formadas en la médula ósea. (35)

-Los efectos antiinflamatorios y antirreumáticos, representan el principal motivo por el cual estos fármacos son prescritos; algunos pueden actuar regulando el metabolismo del cartílago articular ejerciendo un efecto supuestamente "condroprotector". (35)

-**Otros efectos** que se les atribuye son la inhibición de la contracción de la musculatura uterina. Este efecto puede ser suprimido por los AINEs; y una indicación muy común de estos fármacos, es el tratamiento de la dismenorrea e hipermenorrea por dispositivo intrauterino (IUD). La utilidad de algunos AINEs en el cólico renal también está demostrada. (35)

Antiinflamatorios esteroideos (AIEs):

Los **Compuestos de origen suprarrenal** del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHS), libera hormonas suprarrenales como: glucocorticoides y adrenalina, responsables de la adaptación al estrés agudo (síndrome de adaptación general). En condiciones de estrés, la hormona hipotalámica liberadora de corticotropina (CRH) provoca la liberación de la hormona adrenocorticotrópica hipofisaria (ACTH), que da lugar al incremento de la producción de cortisol en la zona *fasciculada* de las glándulas suprarrenales. El sistema nervioso que es activado en condiciones similares, libera noradrenalina neuronal e induce la secreción de adrenalina por la *médula* suprarrenal. Los esteroides suprarrenales son utilizados para diagnóstico y tratamiento de trastornos de la función suprarrenal y enfermedades inflamatorias e inmunitarias; los inhibidores de la síntesis o antagonistas de la acción de ACTH y los esteroides adrenocorticales, son importantes en el tratamiento de diversos tumores. (22, 40, 46, 58, 32)

El **mecanismo de acción antiinflamatoria e inmunosupresora de los glucocorticoides**, se debe principalmente a la modulación positiva o negativa de la transcripción del gen, a la síntesis de la proteína correspondiente o a la modificación de las propiedades del RNAm (30 minutos o más). También poseen efectos no genómicos que involucran receptores de membrana, vía segundos mensajeros (10 minutos aproximadamente); además, los glucocorticoides están involucrados en el control de la función hipotálamo-hipófisis (feedback negativo) y en la apoptosis (muerte) celular; los efectos genómicos, está mediado por receptores de glucocorticoides ("receptores huérfanos"-pertenecientes a la superfamilia de receptores nucleares) que interactúan con promotores de genes blanco; regulando de esta manera, la transcripción de estos genes. Estos receptores se encuentran en el citoplasma formando complejos oligoméricos con

proteínas de choque de calor (Hsp), las más importantes son las dos moléculas de Hsp90. Una parte del esteroide es transportado en el plasma unido a la globulina fijadora de glucocorticoides (GFG, es una α_2 globulina sintetizada por el hígado), otra parte se transporta libre o ligeramente adherido a la albúmina, luego el esteroide libre ingresa a la célula (por su alta liposolubilidad), para luego fijarse al receptor, induciendo cambios conformacionales que permiten su disociación del Hsp. Entonces este nuevo complejo ligando-receptor, se transporta hacia el núcleo como un homodímero y en presencia de Zn interactúa con los elementos del receptor de glucocorticoides (ERG), localizados en los genes promotores, así los glucocorticoides en la inflamación, estimulan la síntesis de una proteína, la lipocortina, la cual inhibe a la fosfolipasa A2, frenando la síntesis del ácido araquidónico y todos los derivados de éste (figura 6); existen otros factores de transcripción, tales como API y NF-kB, que actúan regulando la transcripción de diferentes promotores (implicados en la formación de factores de crecimiento, citocinas proinflamatorias, etc.), por tanto, actúan mediando los efectos anticrecimiento, antiinflamatorio e inmunosupresor de glucocorticoides, al interactuar con receptores de esteroides. La interacción de receptores de glucocorticoides con ERG u otros factores de transcripción, se facilita o inhibe por varias familias de proteínas denominadas "correguladoras" del receptor esteroideo, divididas respectivamente en "coactivadoras" y "correpresoras"; los glucocorticoides regulan entre 10% a 20% de los genes expresados en una célula. (7, 21, 22, 40, 46, 57, 58, 59)

Entre los **efectos fisiológicos y adversos de los glucocorticoides** podemos mencionar:

-Los efectos metabólicos, donde se evidencia incremento de la gluconeogénesis, aumentando la liberación de glucosa e inhibiendo su captura por células musculares (intolerancia a la glucosa); estimulan la lipasa sensible a hormona y, por tanto, la lipólisis; incrementa la secreción de insulina, que favorece la lipogénesis, provocando mayor depósito de lípidos, acompañada por el incremento de liberación de ácidos grasos y glicerol a la circulación; causa hipertensión por desbalance de sodio y agua (efecto mineralocorticoide). (40, 46)

-**Efectos catabólicos**, disminución de masa muscular y debilidad (debido a liberación de aminoácidos en el curso del catabolismo del músculo), está asociada con el aumento en la concentración de glucocorticoides (puede producir miopatía con altas dosis de glucocorticoides); también puede causar osteoporosis, debido a una mayor salida de calcio de los huesos. (40, 46, 59)

-Los **efectos antiinflamatorios e inmunitarios** como la supresión de citocinas inflamatorias, quimiocinas y otros mediadores, inhiben las funciones de los macrófagos (limita su capacidad para fagocitar y matar microorganismos, su capacidad de producir TNFα, IL-1, metaloproteínas y el activador del plasminógeno), disminuyen la capacidad del organismo de combatir la infección, grandes dosis de glucocorticoides disminuyen la producción de anticuerpos (inmunosupresión), reducen la expresión de COX-2 (forma inducible), responsable de formar prostaglandinas, no alteran la activación del complemento, pero sus efectos se inhiben.

En la artritis juvenil crónica, se usan cuando los AINEs producen efectos adversos de consideración, se usa también en el control de rechazo a transplantes. (40, 46, 59)

-**Otros efectos** importantes serían los desordenes del estado de ánimo: depresión psiquiátrica, trastornos de conducta en el hombre (inicialmente euforia y subsecuentemente depresión), supresión del crecimiento, aún con dosis bajas diarias (3-5mg/día ó 0.4mg/Kg./día), producción de úlceras pépticas, cataratas y glaucoma; la administración crónica de glucocorticoides suprime la liberación de ACTH, GH, TSH y LH.

Promueve la redistribución de grasa en el cuerpo (incrementa la grasa visceral, facial, de nuca y supraclavicular).

Induce el deterioro de la función renal (principalmente la filtración glomerular), en ausencia de cantidades fisiológicas de cortisol; la secreción de vasopresina aumenta y desarrolla incapacidad para excretar carga de agua de manera normal. (40, 46, 50, 59)



Tabla 16. Datos del efecto antiinflamatorio (ΔV(mL))

Método Análisis de Varianza de los valores del efecto antiinflamatorio

Para construir la tabla de análisis de varianza (ANAVA), se utilizan las siguientes sumatorias:

SCT $_{\mathbf{m}}$ (Suma de Cuadrados Totales medios)

SCA (Suma de Cuadrados del factor A)

SCB (Suma de Cuadrados del factor B)

SCAB (Suma de Cuadrados de la interacción del factor A y el factor B)

SCE (Suma de Cuadrados del Error)

$$\boxed{\frac{(\text{Gran total})^2}{(a)(b)(n)}}$$

$$\mathbf{SCT_m} = (0.4)^2 + (0.3)^2 + (0.3)^2 + (0.3)^2 + \ldots + (0.3)^2 + (0.4)^2 + (0.2)^2 + (0.4)^2 - \frac{(246.3)^2}{(5)(10)(6)} = 50.81975$$

$$\mathbf{SCA} = \frac{(62.7)^2 + (53.6)^2 + \ldots + (22.7)^2 + (20.5)^2}{(10)(6)} - \frac{(246.3)^2}{(5)(10)(6)} = 25.14658$$

$$\mathbf{SCB} = \frac{(7.7)^2 + (13.4)^2 + \ldots + (30.5)^2 + (26.2)^2}{(5)(6)} - \frac{(246.3)^2}{(5)(10)(6)} = 19.61225$$

$$\mathbf{SCAB} = (1.8)^2 + (1.5)^2 + (1.3)^2 \ldots + (3.6)^2 + (2.7)^2 + (2.0)^2 - SCA \quad SCB \quad \frac{(246.3)^2}{(5)(10)(6)} = 2.79592$$

$$\mathbf{SCE} = \mathbf{SCT_m} - \mathbf{SCA} - \mathbf{SCB} - \mathbf{SCAB} = 3.265$$

Tabla ANAVA

Fuente de variación	Grados de libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios (CM)	Estadístico F_c	F_t ($\alpha = 0.05$)	P
A	(a − 1)	SCA	SCA/(a − 1)	F_c = CMA/CME	GLAGLE	P1
B	(b − 1)	SCB	SCA/(b − 1)	F_c = CMB/CME	GLBGLE	P2
AB	(a − 1)(b − 1)	SCAB	SCAB/(a − 1)(b − 1)	F_c = CMAB/CME	GLABGLE	P3
Error	(a)(b)(n − 1)	SCE	SCE/(a)(b − 1)			
Total	(a)(b)(n − 1)	SCTm				

$F_{0.05}$ = F tabular, donde la intersección del numerador con el denominador en la tabla de frecuencias de Fisher (α = 0.05), es el valor buscado.

Método de Rangos Múltiples de Duncan de los valores del efecto antiinflamatorio

Procedimiento:

a)Se ordenan por separado las medias de tratamientos y tiempos de menor a mayor.

Tratamiento*	
$Prom._{0.04}$	$= 0.3417$
$Prom._{275}$	$= 0.3783$
$Prom._{137.5}$	$= 0.5983$
$Prom._{55}$	$= 0.8483$
$Prom._{27.5}$	$= 0.8933$
$Prom._{control}$	$= 1.0450$

Tiempo*	
$Prom._{30}$	$= 0.2139$
$Prom._{60}$	$= 0.3722$
$Prom._{90}$	$= 0.5000$
$Prom._{120}$	$= 0.6611$
$Prom._{300}$	$= 0.7278$
$Prom._{150}$	$= 0.8028$
$Prom._{270}$	$= 0.8472$
$Prom._{180}$	$= 0.8750$
$Prom._{210}$	$= 0.9000$
$Prom._{240}$	$= 0.9417$

* Donde un menor promedio nos indica, mayor efecto antiinflamatorio.

b)De la tabla ANAVA extraer el (CME) y su grado de libertad (GLE)

CME = 0.01088

GLE = 300

c)Calcular los errores estándares de las medias:

$$S_{y_{\text{tratamiento}}} = \sqrt{\frac{CME}{(b)(n)}} = \sqrt{\frac{0.01088}{(10)(6)}} = 0.013466$$

$$S_{y_{\text{tiempo}}} = \sqrt{\frac{CME}{(a)(n)}} = \sqrt{\frac{0.01088}{(6)(6)}} = 0.017385$$

d)De la tabla de Duncan, se obtienen los valores de los rangos estandarizados.

R α (p,f) α= 0.05, nivel de significancia

F=GLE=300

Tratamiento (p = 2, 3, …, a; a = 6)	**Tiempo** (p = 2, 3, …, b; b = 10)
$R_{0.05\,(6,\,300)} = 3.146$	$R_{0.05\,(10,\,300)} = 3.294$
$R_{0.05\,(5,\,300)} = 3.089$	$R_{0.05\,(9,\,300)} = 3.265$
$R_{0.05\,(4,\,300)} = 3.017$	$R_{0.05\,(8,\,300)} = 3.232$
$R_{0.05\,(3,\,300)} = 2.918$	$R_{0.05\,(7,\,300)} = 3.193$
$R_{0.05\,(2,\,300)} = 2.772$	$R_{0.05\,(6,300)} = 3.146$
	$R_{0.05\,(5,\,300)} = 3.089$
	$R_{0.05\,(4,\,300)} = 3.017$
	$R_{0.05\,(3,\,300)} = 2.918$
	$R_{0.05\,(2,\,300)} = 2.772$

e)Convertir los rangos estandarizados en un conjunto de (a-1) y (b-1) rangos significativos respectivamente, calculando:

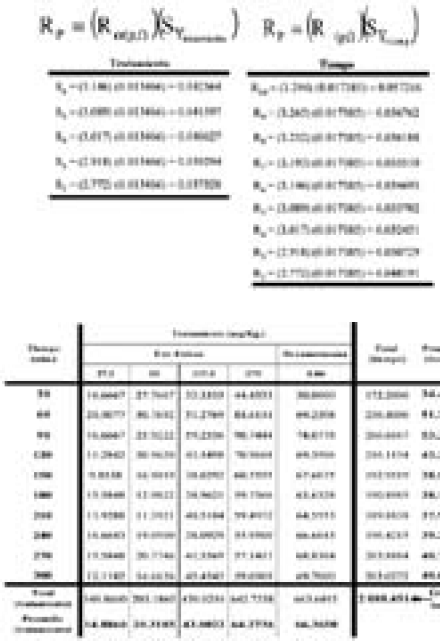


Tabla 17. Datos de los promedios de eficiencia (%)

Método Análisis de Varianza (con una observación por celda) de los valores de eficiencia

Para construir la tabla de análisis de varianza (ANAVA), se utilizan las siguientes sumatorias:

SC(Residual) (Suma de Cuadrados residuales)

SCN (Suma de Cuadrados debido a la no aditividad)

$$\mathbf{SCT_m} = (16.6667)^2 + (27.7667)^2 + \ldots + (45.4545)^2 + (59.0909)^2 + (69.7000)^2 - \frac{(2\ 088.4514)^2}{(5)(10)}$$

$$\mathbf{SCT_m} - 26\ 040.4358$$

$$\mathbf{SCA} = \frac{(148.8600)^2 + (203.1845)^2 + \ldots + (642.7358)^2 + (663.6495)^2}{10} - \frac{(2\ 088.4514)^2}{(5)(10)}$$

$$\mathbf{SCA} = 22\ 957.5935$$

$$\mathbf{SCB} = \frac{(172.2000)^2 + (256.4000)^2 + \ldots + (203.8884)^2 + (203.0272)^2}{5} - \frac{(2\ 088.4514)^2}{(5)(10)}$$

$$\mathbf{SCB} = 1\ 629.4931$$

SC(Residual)= SCT $_m$ − SC $_A$ − SC $_B$

SC(Residual)= 26 040.4358 − 22 957.5935 − 1 629.4931 = 1 453.3492

La suma de cuadrados debida a la no aditividad del modelo (interacción), se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$SSN = \frac{\left[\sum_{i=1}^{a}\sum_{j=1}^{b} Y_{ij}Y_{i.}Y_{j} - Y_{..}\left(SS_A + SS_B + \frac{Y_{..}^{2}}{ab}\right)\right]^2}{(a)(b)(SS_A)(SS_B)}$$

$$\sum_{i=1}^{a}\sum_{j=1}^{b} Y_{ij}Y_{i.}Y_{j} = (16.6667)(172.2000)(148.8600) + (27.7667)(172.2000)(203.1845) + \ldots +$$
$$(59.0909)(203.0272)(642.7358) + (69.7000)(203.0272)(663.6495) = 234\ 385\ 990.0867$$

fig042.jpg

SSN= 391.7776

SSE= SS(Residual) − SSN

SSE= 1 453.3492 − 391.7776 = 1 061.5716

Tabla ANAVA

Fuente de variación	Grados de libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios (CM)	Estadístico F_o	$F_{(\alpha=0.05)}$	P

$F_{0.05}$ = F tabular, donde la intersección del numerador con el denominador en la tabla de frecuencias de Fisher (α = 0.05), es el valor buscado.

Método de Rangos Múltiples de Duncan de los valores de eficiencia

Procedimiento:

a)Se ordenan por separado las medias de tratamientos y tiempos de menor a mayor.

Tratamiento*	
$Prom._{27.5}$	= 14.8860
$Prom._{55}$	= 20.3185
$Prom._{137.5}$	= 43.0022
$Prom._{275}$	= 64.2736
$Prom._{0.04}$	= 66.3650

Tiempo*	
$Prom._{30}$	= 34.4400
$Prom._{210}$	= 37.9768
$Prom._{180}$	= 38.1797
$Prom._{150}$	= 38.5904
$Prom._{240}$	= 39.2843
$Prom._{300}$	= 40.6054
$Prom._{270}$	= 40.7777
$Prom._{120}$	= 43.2227
$Prom._{60}$	= 51.2800
$Prom._{90}$	= 53.3333

b)De la tabla ANAVA extraer el (CME) y su grado de libertad (GLE)

CME = 30.3306

GLE = 35

c)Calcular los errores estándares de las medias:

$$S_{y_{\text{tratamiento}}} = \sqrt{\frac{CME}{(b)(n)}} = \sqrt{\frac{30.3306}{(10)}} = 1.741568$$

$$S_{y_{\text{tiempo}}} = \sqrt{\frac{CME}{(a)(n)}} = \sqrt{\frac{30.3306}{(5)}} = 2.462949$$

d)De la tabla de Duncan, se obtienen los valores de los rangos estandarizados.

R α (p,f) α= 0.05, nivel de significancia

f=GLE=250

Tratamiento (p = 2, 3, ..., a; a = 5)	Tiempo (p = 2, 3, ..., b; b = 10)
$R_{0.05(5,250)} = 3.089$	$R_{0.05(10,250)} = 3.204$
$R_{0.05(4,250)} = 3.017$	$R_{0.05(9,250)} = 3.205$
$R_{0.05(3,250)} = 2.918$	$R_{0.05(8,250)} = 3.232$
$R_{0.05(2,250)} = 2.772$	$R_{0.05(7,250)} = 3.193$
	$R_{0.05(6,250)} = 3.140$
	$R_{0.05(5,250)} = 3.089$
	$R_{0.05(4,250)} = 3.017$
	$R_{0.05(3,250)} = 2.918$
	$R_{0.05(2,250)} = 2.772$

e)Convertir los rangos estandarizados en un conjunto de (a-1) y (b-1) rangos significativos respectivamente, calculando:

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

$$R_p = (R_{\alpha(p,f)})(S_{\bar{Y}_{Tratamientos}})$$

Tratamiento

$R_1 = (3.089)(1.741568) = 5.379704$

$R_2 = (3.017)(1.741568) = 5.254311$

$R_3 = (2.918)(1.741568) = 5.081805$

$R_4 = (2.772)(1.741568) = 4.827627$

$$R_p = (R_{\alpha(p,f)})(S_{\bar{Y}_{Tiempo}})$$

Tiempo

$R_{1.1} = (3.294)(2.462949) = 8.112934$

$R_{2.1} = (3.369)(2.462949) = 8.661529$

$R_{3.1} = (3.232)(2.462949) = 7.960251$

$R_{4.1} = (3.193)(2.462949) = 7.864199$

$R_{5.1} = (3.146)(2.462949) = 7.748436$

$R_{6.1} = (3.089)(2.462949) = 7.608049$

$R_{7.1} = (3.017)(2.462949) = 7.430737$

$R_{8.1} = (2.918)(2.462949) = 7.186885$

$R_{9.1} = (2.772)(2.462949) = 6.827295$