





**Universidad  
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**  
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LA GRASA DE**  
*Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” COMERCIALIZADA  
**EN EL EMPORIO COMERCIAL DE GAMARRA - LA VICTORIA. LIMA 2015**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.**

**AUTORES:**

**Br. Atequipa Quispe Jessica.**

**Br. Cabrera Pachacama Elisabeth.**

**ASESORA:**

**Dra. Juana Elvira Chávez Flores.**

**LIMA-PERÚ**

**2018**

## **DEDICATORIA**

A mis padres Gregorio Atequipa Ortiz y Maximiliana Quispe Ortiz por la valiosa educación que me brindaron, por todos sus sacrificios y por confiar en mí; apoyándome de manera incondicional durante todo el proceso de mi carrera y en la elaboración de la tesis. Esto es posible gracias a ustedes.

A mis hermanos, familiares y grandes amigos por su amor, cariño, apoyo y por los momentos inolvidables que viví con ustedes.

A ti, por darme todo tu apoyo y comprensión en esos momentos que lo necesitaba, por formar parte de mi vida.

Br. Atequipa Quispe Jessica.

.

## **DEDICATORIA**

A mi madre Luzmila por su comprensión y apoyo incondicional durante la carrera y el desarrollo de la tesis, a mis hermanos por su ayuda constante, a mi compañero de vida por confiar siempre en mí. Gracias a todos ustedes por brindarme su tiempo y mostrarme el camino hacia la superación.

A Gael Alessandro, una nueva gran razón para levantarme cada día esforzándome por el presente y el mañana, eres mi principal motivación hijo.

Br. Cabrera Pachacama Elisabeth.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Juana Elvira Flores Chávez por su tiempo y paciencia durante el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Bell Cortez por su apoyo en el análisis de la muestra por cromatografía de gases.

Al Dr. Miguel Félix Veliz por su apoyo en el análisis fisicoquímico de la muestra.

A la universidad Norbert Wiener por brindar todas las facilidades para el desarrollo de la tesis.

A nuestros grandes amigos, compañeros y futuros colegas que contribuyeron para el desarrollo de la tesis.

## RESUMEN

La medicina tradicional en el Perú actualmente sigue siendo empleado por la población, usando cada vez mayor productos de origen animal. **Objetivo:** Determinar el efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental para determinar el efecto antiinflamatorio con método de edema inducido por xilol Q.P en pabellón auricular de ratón con una población de estudio de 48 ratones entre machos y hembras de 25-30 g. Posteriormente se aplicó tópicamente la grasa de la *Boa constrictor constrictor*, cremas elaboradas a base de la misma grasa al 15, 20 y 30% de concentración y el fármaco de referencia diclofenaco 1% crema. Paralelamente se realizó un análisis fisicoquímico y analítico de la grasa de *Boa constrictor constrictor*. Para el análisis estadístico descriptivo e inferencial los datos fueron procesados para determinar la media  $\pm$  desviación estándar (DE); Así mismo se aplicó la prueba de ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples (MDS). **Resultados:** En la determinación del efecto antiinflamatorio se demuestra que la grasa de la *Boa constrictor constrictor* y las cremas de 30 y 20 % de concentración, presentan resultados significativos ( $p < 0,05$ ) para el efecto antiinflamatorio, por lo tanto con efecto diferenciado y superior al del placebo. En el estudio analítico se evidencia que los ácidos grasos obtenidos a través del análisis por cromatografía de gases fue de 97,7% ácidos grasos identificados, de los cuales el 31,9 % son ácidos grasos saturados; 43,6% monoinsaturados y 22,2% poliinsaturados (omega 6 y omega 3). **Conclusión:** Se determinó que la grasa de *Boa constrictor constrictor* comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015, tiene efecto antiinflamatorio.

**PALABRAS CLAVE:** *Boa constrictor constrictor*, grasa, ácidos grasos, efecto antiinflamatorio

## SUMMARY

Traditional medicine in Peru currently continues to be employed by the population, using increasing products of animal origin. **Objective:** To determine the anti-inflammatory effect of the fat of *Boa constrictor constrictor* "Boa" Mantona marketed in the commercial emporium of Gamarra - The Victory. Lima 2015. **Methodology:** An experimental study was carried out to determine the anti-inflammatory effect with method of Q.P xylol induced edema in the auricular pavilion of mouse with a study population of 48 mice between males and females between the ages of 25-30 g. Subsequently applied topically the fat of the *Boa constrictor constrictor*, creams, developed on the basis of the same fat at 15, 20 and 30% of concentration and the reference drug Diclofenac 1% cream. At the same time a physicochemical analysis and analytical of the fat of *Boa constrictor constrictor*. For the descriptive and inferential statistical analysis the data were processed to determine the mean  $\pm$  standard deviation (SD), and the same applied the ANOVA test and the test of multiple comparisons (MDS). **Results:** In the determination of the anti-inflammatory effect shows that the fat of the *Boa constrictor constrictor* and creams of 30 and 20 % of concentration, present significant results ( $p < 0.05$ ) for the anti-inflammatory effect, therefore with differentiated effect and superior to that of placebo. In the analytical study, it is evident that the fatty acids obtained through the analysis by gas chromatography was 97,7% fatty acids were identified, of which 31,9% are saturated fatty acids; 43,6% monounsaturated and 22,2% polyunsaturated fats (omega 6 and omega 3). **Conclusion:** It was determined that the fat of *Boa constrictor constrictor* marketed in the commercial emporium of Gamarra - The Victory. Lima 2015. has anti-inflammatory effect.

Keywords: *Boa constrictor constrictor*, fat , fatty acids, anti-inflammatory effect.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>Resumen</b>	
<b>Summary</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MARCO TEORICO</b>	3
<b>2.1</b> Antecedentes	3
<b>2.2</b> Bases teóricas	6
2.2.1 Medicina tradicional	6
2.2.2 Estudio de la especie <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	7
2.2.3 Metodologías y fundamentos para el estudio fisicoquímico y caracterización de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	13
2.2.4 Estudio farmacológico	20
2.2.4.1 Inflamación	20
2.2.4.2 Tipos de inflamación	21
2.2.4.3 Lípidos	22
2.2.4.4 Ácidos grasos	24
2.2.4.5 Mecanismos de producción de moléculas proinflamatorias	28
2.2.4.6 Ácidos grasos e inflamación	30
2.2.4.7 Antiinflamatorios no esteroides (AINES)	33
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL</b>	36
<b>3.1</b> Materiales	36
<b>3.2</b> Método	38
3.2.1 Población de estudio	38
3.2.2 Tipo de investigación	38
3.2.3 Lugar de ejecución	38
<b>3.3</b> Procedimiento metodológico	38
3.3.1 Identificación de zona de comercio y de la especie de mayor demanda	38

3.3.2	Identificación de la especie <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	39
3.3.3	Extracción de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	39
3.3.4	Estudio fisicoquímico	40
3.3.5	Caracterización de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	45
3.3.5.1	Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	45
3.3.5.2	Lectura en el espectrofotómetro UV–visible de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	46
3.3.5.3	Determinación del perfil de ácidos grasos de la grasa de la <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona” por cromatografía de gases	46
3.3.6	Estudio farmacológico	47
3.3.6.1	Evaluación del efecto antiinflamatorio de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”	47
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>52</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>60</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>65</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>66</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>67</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS.</b>	<b>76</b>

## ÍNDICE DE TABLAS.

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Procedimiento de inflamación en la oreja del ratón.	50
<b>Tabla 2.</b> Resultado del estudio fisicoquímico de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	52
<b>Tabla 3.</b> Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa tal cual de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	53
<b>Tabla 4.</b> Lectura en UV–visible de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	53
<b>Tabla 5.</b> Perfil de ácidos grasos obtenidos por cromatografía de gases.	54
<b>Tabla 6.</b> Tabla de ANOVA, análisis de varianza para el efecto antiinflamatorio (ANOVA DE UN FACTOR).	57
<b>Tabla 7.</b> Análisis descriptivos del efecto antiinflamatorio.	58
<b>Tabla 8.</b> Análisis de múltiples comparaciones – MDS; para el efecto antiinflamatorio.	82
<b>Tabla 9.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para el efecto antiinflamatorio.	83
<b>Tabla 10.</b> Comparación de medias por el método de Duncan.	83

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Principales serpientes no venenosas del Perú.	09
<b>Figura 2.</b> Componentes de la respuesta inflamatoria aguda y crónica y sus principales funciones .	21
<b>Figura 3.</b> Clasificación de los ácidos grasos insaturados.	25
<b>Figura 4.</b> Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a partir de ácido linoleico y ácido linolénico.	30
<b>Figura 5.</b> Efectos biológicos de los eicosanoides derivados del AA y EPA.	32
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINES).	35
<b>Figura 7.</b> Preparación, obtención y estudio de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> "Boa Mantona".	40
<b>Figura 8.</b> Resumen de ácidos grasos obtenidos a partir de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> "Boa Mantona".	55
<b>Figura 9.</b> Ácidos grasos presentes en la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> . "Boa Mantona".	56
<b>Figura 10.</b> Porcentaje de Omegas obtenidos de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> . "Boa Mantona".	57
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de inhibición del edema de la inflamación.	58
<b>Figura 12.</b> Desviación típica del efecto antiinflamatorio para cada uno de los tratamientos.	83
<b>Figura 13.</b> <i>Boa constrictor constrictor</i> "Boa Mantona".	84
<b>Figura 14.</b> Grasa de la <i>Boa constrictor constrictor</i> "Boa Mantona" sometido a una temperatura de 40°C.	84
<b>Figura 15.</b> Grupo de ratones albinos cepa Balb/C53 distribuidos en grupo.	85
<b>Figura 16.</b> Ratones albinos pesados en la balanza metálica de acero inoxidable.	85

<b>Figura 17.</b> Aplicación tópica del agente irritante (xilol Q.P) en el pabellón auricular del ratón.	86
<b>Figura 18.</b> Aplicación tópica de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> . “Boa Mantona” en el pabellón auricular derecho del ratón.	86
<b>Figura 19.</b> Porción del pabellón auricular del ratón extraída con el sacabocado.	87
<b>Figura 20.</b> Peso de la porción del pabellón auricular extraída con el sacabocado.	87
<b>Figura 21.</b> Muestra de la grasa de la <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona” a 40°C y las cremas elaboradas a 15, 20 y 30 % de concentración.	88

## INDICE DE ANEXOS.

	Pág.
<b>ANEXO 1.</b> Información taxonómica de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	76
<b>ANEXO 2.</b> Protocolo de análisis fisicoquímicos de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	77
<b>ANEXO 3.</b> Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa mantona”.	78
<b>ANEXO 4.</b> Lectura en UV–visible de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa mantona”.	79
<b>ANEXO 5.</b> Reporte del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.	80
<b>ANEXO 6.</b> Resultados estadísticos del estudio farmacológico de la grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> “Boa Mantona”.	82
<b>ANEXO 7.</b> Procedimiento farmacológico para determinación del efecto antiinflamatorio.	84

## ABREVIATURA DE TÉRMINOS

MID	: Dilución inhibidora máxima.
BH	: Infusión de cerebro y corazón.
MIC	: Concentraciones inhibitorias mínimas.
AA	: Ácido araquidónico.
TPA	: 2-O-tetradecanoilforbol-13-acetato.
COA	: Coenzima A.
AL	: Ácido linoléico.
ALN	: Ácido alfa linolénico.
AGPIS	: Ácido graso poliinsaturados.
AGPIS-CL	: Ácido graso poliinsaturados de cadena larga.
LOX	: Lipooxigenasa.
EPA	: Ácido eicosapentaenoico.
DHA	: Ácido docosahexaenoico.
AINES	: Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.
DGLA	: Ácido dihomo gamma-linolénico.
TXA	: Tromboxanos.
PGI	: Prostaglandinas.
AAS	: Ácido acetil salicílico.
CG	: Cromatografía de gases.
USP	: Farmacopea de Estados Unidos.
NF	: Formulario Nacional.
OAC	: Asociación de químicos analíticos oficial.
AOCS	: Sociedad Americana de Químicos del Aceite.
NTP	: Norma técnica Peruana.
SV	: Solución Valorada.
SR	: Solución Reactivo.

## RESUMEN

La medicina tradicional en el Perú actualmente sigue siendo empleado por la población, usando cada vez mayor productos de origen animal. **Objetivo:** Determinar el efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental para determinar el efecto antiinflamatorio con método de edema inducido por xilol Q.P en pabellón auricular de ratón con una población de estudio de 48 ratones entre machos y hembras de 25-30 g. Posteriormente se aplicó tópicamente la grasa de la *Boa constrictor constrictor*, cremas elaboradas a base de la misma grasa al 15, 20 y 30% de concentración y el fármaco de referencia diclofenaco 1% crema. Paralelamente se realizó un análisis fisicoquímico y analítico de la grasa de *Boa constrictor constrictor*. Para el análisis estadístico descriptivo e inferencial los datos fueron procesados para determinar la media  $\pm$  desviación estándar (DE); Así mismo se aplico la prueba de ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples (MDS). **Resultados:** En la determinación del efecto antiinflamatorio se demuestra que la grasa de la *Boa constrictor constrictor* y las cremas de 30 y 20 % de concentración, presentan resultados significativos ( $p < 0,05$ ) para el efecto antiinflamatorio, por lo tanto con efecto diferenciado y superior al del placebo. En el estudio analítico se evidencia que los ácidos grasos obtenidos a través del análisis por cromatografía de gases fue de 97,7% ácidos grasos identificados, de los cuales el 31,9 % son ácidos grasos saturados; 43,6% monoinsaturados y 22,2% poliinsaturados (omega 6 y omega 3). **Conclusión:** Se determinó que la grasa de *Boa constrictor constrictor* comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015, tiene efecto antiinflamatorio.

**PALABRAS CLAVE:** *Boa constrictor constrictor*, grasa, ácidos grasos, efecto antiinflamatorio.

## SUMMARY

Traditional medicine in Peru currently continues to be employed by the population, using increasing products of animal origin. **Objective:** To determine the anti-inflammatory effect of the fat of *Boa constrictor constrictor* "Boa" Mantona marketed in the commercial emporium of Gamarra - The Victory. Lima 2015. **Methodology:** An experimental study was carried out to determine the anti-inflammatory effect with method of Q.P xylol induced edema in the auricular pavilion of mouse with a study population of 48 mice between males and females between the ages of 25-30 g. Subsequently applied topically the fat of the *Boa constrictor constrictor*, creams, developed on the basis of the same fat at 15, 20 and 30% of concentration and the reference drug Diclofenac 1% cream. At the same time a physicochemical analysis and analytical of the fat of *Boa constrictor constrictor*. For the descriptive and inferential statistical analysis the data were processed to determine the mean  $\pm$  standard deviation (SD), and the same applied the ANOVA test and the test of multiple comparisons (MDS). **Results:** In the determination of the anti-inflammatory effect shows that the fat of the *Boa constrictor constrictor* and creams of 30 and 20 % of concentration, present significant results ( $p < 0.05$ ) for the anti-inflammatory effect, therefore with differentiated effect and superior to that of placebo. In the analytical study, it is evident that the fatty acids obtained through the analysis by gas chromatography was 97,7% fatty acids were identified, of which 31,9% are saturated fatty acids; 43,6% monounsaturated and 22,2% polyunsaturated fats (omega 6 and omega 3). **Conclusion:** It was determined that the fat of *Boa constrictor constrictor* marketed in the commercial emporium of Gamarra - The Victory. Lima 2015. has anti-inflammatory effect.

Keywords: *Boa constrictor constrictor*, fat, fatty acids, anti-inflammatory effect.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Planteamiento de problema.

La medicina tradicional comprende el conjunto de ideas, conceptos, creencias, mitos y procedimientos relativos a las enfermedades; su etiología, nosología y procedimientos de diagnóstico, pronóstico, terapéutica y prevención. Estos conocimientos se transmiten por generaciones, se mantienen vigentes y forman parte del patrimonio cultural a nivel mundial<sup>1</sup>.

El Perú presenta una diversidad de formas de vida, con más de 383 especies de reptiles<sup>2</sup>. El Perú se ubica como uno de los países de mayor mega diversidad en el mundo<sup>3</sup>.

El interés por el estudio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” surge a partir de la observación del empleo popular en diversas zonas de nuestro país, esto se percibe a través de la oferta en diversos puntos estratégicos de comercio debido al interés difundido de favorecer el proceso antiinflamatorio, este sebo ejercería efecto aplicado sobre la piel, también puede estar asociado a plantas cálidas para obtener mejores resultados según afirman los vendedores populares<sup>4</sup>. En nuestro país al no existir estudios científicos ni estar regularizados por un control sanitario, la DIGEMID advierte sobre posibles daños a la salud<sup>5</sup>.

*Boa constrictor constrictor* pertenece a la familia de los boidios, la más primitiva de todas las serpientes grandes. El uso de su grasa se ha incrementado con el paso de los años debido a que se le atribuyen propiedades antiinflamatorias. Este conocimiento empírico amerita darle validez científica, lo que podría permitir a su vez el desarrollo de proyectos que apoyen la conservación de este importante recurso natural ya que en la selva central su población está disminuyendo debido a la caza indiscriminada de su especie, por ello es necesario desarrollar actividades para lograr su protección y aprovechamiento como nueva opción terapéutica natural.

## **1.2 Formulación del problema:**

¿Posee efecto antiinflamatorio la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” que se comercializa en el emporio comercial de Gamarra – La victoria. Lima 2015?

## **1.3 Objetivos.**

### **1.3.1 Objetivo general:**

Evaluar el efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015.

### **1.3.2 Objetivos específicos:**

1. Evaluar el efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” tal cual, y bajo la forma farmacéutica de crema a diferentes concentraciones (15, 20 y 30 %).
2. Realizar la caracterización de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”, a través del análisis por espectroscopía de Infrarrojo, espectrofotómetro UV-visible y cromatografía de gases.
3. Determinar el mayor porcentaje de ácidos grasos presentes en la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” a través del perfil de ácidos grasos obtenido en función de su tiempo de retención, mediante el análisis por cromatografía de gases.
4. Realizar el estudio fisicoquímico de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015.

## **1.4 Hipótesis:**

La grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra - La Victoria. Lima 2015, posee efecto antiinflamatorio

## **1.5 Variables:**

### **- Independiente:**

Grasa de *Boa constrictor constrictor*.

### **- Dependiente:**

Efecto antiinflamatorio.

## II. MARCO TEORICO.

### 2.1. Antecedentes.

#### 2.1.1 Antecedentes internacionales.

**Falodun A, Owolabi J, et al. (2008)**<sup>6</sup>, en el estudio titulado: Evaluación fisicoquímico, antimicrobiano y antiinflamatorio del aceite crudo de *Boa Constrictor* (Nigeria). La grasa es usada para para el tratamiento de quemaduras y afecciones inflamatorias. **Objetivo:** Evaluar el uso tradicional de la grasa y del aceite crudo. **Metodología:** Para la evaluación química se determinaron algunas propiedades fisicoquímicas tales como índice de saponificación, índice de acidez, el índice de yodo y gravedad específica utilizando métodos estándar. La investigación antimicrobiana se realizó utilizando algunas bacterias que se encuentran en la herida, se utilizó el método de dilución en serie para determinar la dilución inhibidora máxima (MID). El estudio antiinflamatorio se realizó por el método del edema en la oreja de ratón inducido por aceite de croton, donde los ratones fueron tratados con grasa de boa a diferentes concentraciones y con una crema de hidrocortisona. **Resultados:** Índice de acidez de 310.73 mg KOH/g, índice de yodo de 133g yodo/100 g, índice de saponificación de 179.42 % y gravedad específica de 0,81. El aceite fijo de *Boa constrictor* produjo zonas de inhibición contra bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *streptococcus* indicando la presencia de actividad antibacteriana, sin embargo no tiene la misma actividad contra los organismos Gram negativos. La grasa de *Boa constrictor* mostró actividad antiinflamatoria significativa en el edema de oreja de ratón comparable al efecto de la hidrocortisona. **Conclusión:** Se evaluó el efecto antiinflamatorio y una actividad antimicrobiana de la grasa de *Boa constrictor* contra bacterias Gram positivas presentes en la herida.

**Khunsap S, Buranapraditkun S, et al. (2015)**<sup>7</sup>, en el estudio titulado:

Perfil de ácidos grasos de aceite de Cobra y su actividad en células de melanoma de la piel (Tailandia). El aceite de *Kaouthia Naja* es utilizado como remedio tradicional tailandés para el cuidado de la piel.

**Objetivo:** Determinar los componentes ácidos grasos del aceite de la cobra y evaluar su efecto sobre células de melanoma de la piel.

**Metodología:** Para el análisis instrumental los ácidos grasos se identificaron por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC / MS). En el análisis apoptótico, la línea celular se sembró en placas durante 24 horas, las diversas concentraciones óptimas de aceite de serpiente se añadieron a las células y se incubaron a 37° C con 5% de CO<sub>2</sub> durante 20 horas, se recogieron y se lavaron con PBS 7,2, se tiñeron con Annexin VFITC y PI durante 15 minutos. Las células apoptóticas se detectaron por citometría de flujo.

**Resultados:** Los componentes lipídicos de aceite de Cobra consistieron en ácidos grasos 30,34% saturados, 34,19% monoinsaturados y 25,96% poliinsaturados). Los resultados representados 20,88% de ácido palmítico, 24,77% de ácido vaccénico y 19,16% de ácido linoleico. El aceite de Cobra conlleva a muerte celular apoptótica inducida ligeramente en SK-MEL-28 células.

**Conclusiones:** Se evaluó el efecto sobre células de melanoma de la piel y sus componentes lipídicos.

### 2.1.2 Antecedentes nacionales.

**Bell C. (2007)**<sup>8</sup>, en el estudio titulado: Estudio fisicoquímico y analítico de la grasa de iguana verde (*Iguana iguana*), efecto cicatrizante y antiinflamatorio sobre lesiones inducidas en ratas (Lima – Perú).

**Objetivo:** Evaluar el efecto cicatrizante, antiinflamatorio y antimicrobiano de la grasa de iguana verde (*Iguana iguana*).

**Metodología:** Para la evaluación química se determinaron algunas propiedades fisicoquímicas tales como índice de acidez, índice de saponificación, peróxidos, yodo, etc. Para las Para el análisis instrumental se realizaron las pruebas: identificación en el espectrofotómetro infrarrojo, identificación en el espectrofotómetro UV-

visible e identificación y cuantificación de ácidos grasos por cromatografía de gases. El estudio antiinflamatorio se realizó utilizando método del edema de la oreja de ratón inducido por xilol, donde los ratones fueron tratados con grasa de boa a dosis única de 4mg/oreja siendo diclofenaco y dexametasona los fármacos antiinflamatorios de referencia. Se utilizó el método del disco placa-cultivo con cepas para evaluar la actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas (*B.subtilis*, *S. aureus* y *S. epidirmidis*) y Gram negativas (*salmonella cholerae* y *Escherichia coli*). Para determinar actividad cicatrizante se practicaron lesiones en ratas (IV grupos) y se aplicaron distintos preparados a dosis de 0,55 mL/kg (vía tópica). **Resultados:** Índice de acidez 0,21%, índice de yodo de 61,73%, índice de saponificación de 195,12% e índice de peróxido de 0,000%. El estudio analítico instrumental reveló presencia de ácidos grasos (36,9% saturados, 45,6% monoinsaturados y 15,8% poliinsaturados). La grasa de iguana verde demostró claras evidencias de atenuar cicatrices en ratas, asimismo demostró tener actividad antiinflamatoria, sin embargo, para la actividad antimicrobiana fue poco significativa. **Conclusiones:** Se evaluó el efecto cicatrizante, antiinflamatorio y antimicrobiano de la grasa de iguana verde.

**Schmeda H, Delporte C, et al. (2014)**<sup>9</sup>, en el estudio titulado: Actividad antiinflamatoria y antimicrobiana del aceite de animales de la Amazonia Peruana. La grasa y aceite de los peces *Electrophorus electricus* y *Potamotrygon motoro*, reptiles como la *Boa constrictor*, *Chelonoidis denticulata*, *Melanosuchus niger* y el delfín fluvial *Inia geoffrensis* se utilizan como agentes antiinflamatorios en la amazonia. **Objetivo:** Evaluar la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana de la grasa y aceite, así como la composición de ácidos grasos. **Metodología:** El efecto antiinflamatorio tópico se evaluó por el método del edema en oreja de ratón inducida por ácido araquidónico (AA) y 2-O-tetradecanoilforbol-13-acetato(TPA), se utilizaron como fármacos antiinflamatorios de referencia la indometacina y nimesulida contra TPA

Y AA respectivamente, la aplicación se asemeja al uso tópico tradicional de los aceites. El efecto antimicrobiano fue evaluado por la prueba de microdilución frente a cepas de referencia de *E.coli*, *S. aureus* y *S. enteritidis*. La composición de ácidos grasos de los aceites y grasas se determinó mediante el análisis por cromatografía de Gases y el análisis GC-MS se realizó para verificar la información.

**Resultados:** Todos los aceites y grasas mostraron actividad antiinflamatoria con un mejor efecto en los ratones inducidos por TPA, siendo más efectivo para las especies *P. motoro*, *M. niger* y *G. denticulata*. En el ensayo de AA inducida la mayor actividad antiinflamatoria son para las especies *P. motoro* y *E. electricus*. Los aceites de la *G. denticulata*, *M.niger*, *P.motora* y *Boa constrictor*, son considerados inactivos como agentes antimicrobianos, con valores MIC 41000 mg / ml., Sin embargo, los aceites de *E. electricus* y *I.geoffrensis* presentaron mejores actividades, con una MIC de 250 mg / ml contra *S.enteritidis* y reducir (100%) el crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 con valores de CIM de 250 y 500 mg / ml, respectivamente. Del contenido de ácidos grasos de las grasas de reptiles, el ácido oleico fue el compuesto principal, representando el 52,11% de *Boa constrictor*, 39,86 para *G. denticulata* y 36.14% para los aceites de *M. niger* respectivamente. El ácido palmítico, linoleico y esteárico contribuyó con 25,56, 9,19 y 6,42% para *Boa constrictor*, 31,67, 5,66 y 5,92 para *G.denticulata* y 20,58, 5,80 y 7,32% para *M. Níger*, respectivamente.

**Conclusiones:** Se evaluó la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria y su composición de ácidos grasos.

## **2.2. Bases teóricas.**

### **2.2.1. Medicina tradicional.**

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el

diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales<sup>10</sup>.

La medicina tradicional se trata entonces de un conocimiento anónimo colectivo y circunscrito a un área o a una región en un tiempo determinado. Esta medicina se caracteriza por estar sustentada en una especial concepción del ser humano sobre el mundo que lo rodea. En muchos países este tipo de medicina se opone aunque convive con-la llamada medicina académica, científica o moderna, de carácter universal. En el caso peruano, estas dos maneras de ver el mundo están contrapuestas, aunque coexisten e intercambian nociones y prácticas<sup>1</sup>.

En el siglo XX se produce un portento que es visible en varias ciudades de nuestro país, Lima no es la excepción. Básicamente en mención de la demanda de los sistemas médicos que disminuyen de manera notable, es así que en el entorno de los comerciantes de productos naturales surgen farsantes que se aprovechan de la crisis e introducen sus prácticas mercantilistas<sup>11</sup>.

Es así que hoy en día existen vendedores de productos naturales en diversas zonas de nuestro país que se dedican exclusivamente al comercio de la terapéutica natural animal, sin embargo, también se convive con farsantes, es por ello que se debe de tomar las debidas precauciones y ser muy cauteloso a la hora de elegir un tratamiento no convencional<sup>5</sup>.

## **2.2.2. Estudio de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa mantona”**

### **A. Referencias históricas.**

Históricamente el Perú se ha beneficiado con el uso de esta especie silvestre, a través de las diferentes comunidades indígenas y las poblaciones rurales de bajo recurso económico<sup>9</sup>.

La *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” ha sido y es utilizada por distintos grupos socioculturales de nuestro país sobre todo en la Amazonía, donde ofrecen en los mercados, los aceites se almacenan

en botellas de plástico o de vidrio y se mantiene a temperatura ambiente<sup>9</sup>. La forma de extracción de la grasa es similar en diversos países, en Puerto Rico los pobladores para poder extraerle la grasa estiran la culebra entre dos estacas, la disecan y luego remueven la grasa <sup>12</sup>.

En la lógica empírica racional de los pobladores, fundamentalmente del valle del Mantaro a algunos animales de aire, agua y tierra; silvestres y domesticados; tiernos, maduros; sobresale lo fresco y cálido y según esta connotación térmica son utilizados indistintamente mediante la frotación (grasas) para el tratamiento de diversas enfermedades naturales, sobrenaturales entre ellas: luxaciones, inflamaciones, y otras enfermedades de frío y calor. La forma de administración es frotando la grasa macerada en aguardiente<sup>13</sup>.

En otros países de Sudamérica como son: Brasil y Ecuador, se acostumbra el uso de su grasa para diferentes tratamientos especialmente como rubefaciente y antiinflamatorio al aplicársela externamente o en fricciones, además se utiliza para el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias<sup>7,14</sup>.

## **B. Ubicación sistemática.**

La sistemática de las serpientes ha sufrido grandes cambios desde que fuera establecida por primera vez por Linneo en su Sistema Natural de 1758 <sup>15</sup>. La clasificación taxonómica de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” corresponde a la siguiente descripción contemplada en el ANEXO I<sup>16</sup>.

**Familia Boidae.** La familia de los Boideos es la más primitiva de todas las serpientes grandes, entre las que se encuentran los reptiles más largos que se conocen actualmente <sup>17</sup>.

***Boa constrictor constrictor***, llamada también “mantona”, es tal vez la boa más abundante de la selva peruana, su tamaño varía de 2,5 a 4m pudiendo tener de 15 a 40 crías por camada, su coloración es variada, pero predomina el fondo de color crema con parches

circulares e irregulares de color marrón oscuro. Se alimenta de mamíferos y aves. Teniendo en cuenta su docilidad esta serpiente la utilizan los curanderos, mientras que en otros casos las crían como mascotas<sup>18</sup>.

Es conocida con múltiples sinónimos: *Boa constrictor ortonii* — KOCH 2010, *Boa orophias* — BONNY 2007, *Boa constrictor occidentalis* — WINCHELL 2010, *Boa nebulosa* — ANGIN 2015, *Boa constrictor constrictor* LINNAEUS 1758, *Boa constrictor constrictor* BINDER & LAMP 2007, *Boa constrictor* LINNAEUS 1758: 215, *Boa occidentalis* - BOULENGER 1893: 118, entre otros<sup>19</sup>.

<b>FAMILIA</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>NOMBRE COMUN</b>
<b>Boidae</b>	<i>Corallus caninus</i>	Boa esmeralda
	<i>Corallus enydris</i>	Cutriboa
	<i>Epicrates cenchria</i>	Boa arcoiris
	<i>Boa constrictor constrictor</i>	Mantona
	<i>Boa constrictor ortonii</i>	Macanche
	<i>Eunectes murinus</i>	Anaconda o yacumama
<b>Colubridae</b>	<i>Liophis sp.</i>	Afaninga
	<i>Pseustes sulphureus</i>	Falsa cobra
	<i>Spilotes pullatus</i>	Iguana machaco
	<i>Alsophis elegans</i>	Culebra de costa
	<i>Chironius cinnamomeus</i>	Aguaje machaco
	<i>Helicops angulatus</i>	Yaco jergón

**Figura 1.** Principales serpientes no venenosas del Perú<sup>18</sup>.

### **C. Distribución geográfica.**

La familia Boidae comprende 39 especies que se distribuyen por el Oeste de América del Norte, América Central, las Antillas y gran parte de América del sur, África y Madagascar, Asia occidental, Nueva Guinea e Islas Salomón<sup>20</sup>.

México (Yucatán, Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Veracruz, Puebla, Jalisco, Morelos, Hidalgo), Belice, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia (Valle del Cauca), Venezuela (Mérida [HR 27: 88], Isla Margarita), Guyana, Guayana Francesa, Surinam, Perú (Pasco, Piura), Bolivia, Brasil

(Amapá, Pará, Rondonia, Bahía, Sergipe, RO, Amazonas, Pará, Pernambuco, Distrito Federal, Sao Paulo, Río de Janeiro, Paraná, Piauí, Mato Grosso, Goiás, S Ceará, Rio Grande do Norte), Argentina, Paraguay, Trinidad, Tobago, Antillas, por ejemplo, Martinica, Aruba (Introducido); Antigua (sólo sub-fósil), elevación (Honduras): 0-1370 m. EE.UU. (Introducido a la Florida)<sup>19</sup>.

Existe una radiación adaptativa en cuanto a la especie *Boa constrictor*, con un total de once subespecies conocidas hasta la fecha, si bien la subespecie *Boa constrictor constrictor* es la más conocida, en Perú existen otras dos subespecies, ambas en peligro de extinción, la primera es la *constrictor ortonii*, que se distribuye en el Bosque seco ecuatorial, entre los departamentos de Tumbes y Piura, es conocida localmente como “Macanche”, como otras especies de boas, es más arborícola que terrestre, en este caso soportando extensos periodos de sequedad, que matarían a otra subespecie, la tercera es la boa *Constrictor longicauda*, que habita en el bosque montano, entre los departamentos de Amazonas y Cajamarca, igualmente, se encuentra en peligro de extinción, pero en contraparte con *B. c. ortonii*, habita en un bosque lluvioso, donde la posibilidad de researse es muy lejana<sup>17</sup>.

#### **D. Estudio biológico.**

*Boa constrictor constrictor* es una de las serpientes de mayor tamaño con adaptaciones a diferentes tipos de ambientes por lo que su rango de distribución es muy amplio. Se distribuye de manera natural, desde el norte de México hasta Argentina. Se alimenta de aves, reptiles y mamíferos pequeños o medianos que caza durante la noche al detectarlos por diferencias en temperatura. Esta especie puede atrapar murciélagos colgándose de ramas y embistiéndolos durante el vuelo (Garza, 2001). Es una especie vivípara que se reproduce estacionalmente, por lo general durante la temporada de lluvias, produciendo de 10 a 20 crías por camada. Puede vivir hasta 30 años en vida libre <sup>21</sup>.

### **Ciclo de vida.**

El tamaño de las boas presentan una gama que va desde serpientes de apenas 1,5 metros como el género *Corallus*, hasta gigantes como *Eunectes murinus* y *Pythos reticulatus* de hasta seis metros de longitud, en el caso de la anaconda verde, llega a pesar hasta 500 kilogramos. La adaptación de las estructuras sensoriales en la cabeza de los boidios revela, en cierta forma, el hábitat preferido por éstos, si bien la mayoría presenta los ojos y los orificios nasales a los lados de la cabeza, especies como *Eunectes murinus*, y las otras dos especies del género, presentan los ojos y orificios nasales en el tope de la cabeza, alineados con el nivel del agua, lo que les permite detectar eficazmente a su presa sin ser descubierta en el acto hasta que es el instante mismo del ataque<sup>17</sup>.

### **Hábitos alimenticios.**

Se alimentan de mamíferos de pequeño tamaño, tales como roedores, didelfimorfos, y a veces, aves, que capturan en las ramas de los árboles o en el suelo del bosque<sup>17</sup>.

Boas con tamaño de hasta 1,5 m son capaces de cazar anfibios, reptiles, mamíferos pequeños y aves (incluyendo huevos y polluelos). Las boas de mayor tamaño pueden depredar animales medianos como agutíes, mapaches, coatíes y hocofaisanes. Es un cazador nocturno que utiliza las fosetas termosensoriales para localizar a sus presas a las cuales devora después de haberlas constreñido con su cuerpo<sup>21</sup>.

### **Medios de defensa.**

*Boa constrictor constrictor* ayuda a mezclarse con su entorno. Este camuflaje es su defensa más importante contra enemigos como el cocodrilo, los gatos de la selva y seres humanos. Si el enemigo no puede verlo, la *Boa constrictor* está a salvo. Si un enemigo lo encuentra, la boa puede intentar arrastrarse a un lugar seguro. Si esto no funciona, se abrirá la boca y emitirá un fuerte silbido, también morderá, debido a que los dientes de una boa son afilados como

agujas, la mordedura resultará herida, aunque no haya veneno. La mordedura no es peligrosa para los seres humanos <sup>22</sup>.

### **Reproducción.**

Dentro de la familia boidae, se encuentran dos subfamilias, separadas por la forma de procrear, si bien las serpientes en su mayoría son ovíparas, existe un selecto grupo de serpientes ovovivíparas, entre las que se incluyen las boas de la subfamilia boidae, la segunda subfamilia, los pythoninae, son los únicos boidios que ponen huevos. En contraparte con las pitones, las boas y anacondas son ovovivíparas, los huevos, carecen de cáscara calcificada y se desarrollan en el vientre de las madres, una forma más segura de asegurar la supervivencia de sus crías; las boas recién nacidas, salen de sacos membranosos depositados por la madre, muy similar al caso de los viperidos, las crías, a pesar de carecer completamente de veneno, son agresivas, compensando el hecho de no poseer toxicidad, en especial las *Eunectes murinus*, son extremadamente agresivas, posiblemente para compensar el pequeño tamaño con que nacen, pero, a pesar de los cuidados maternos en el vientre, no todas las crías sobreviven, siempre existe un porcentaje de mortalidad, de otro modo, existiría una progresión geométrica, con la población aumentando explosivamente en vez de mantenerse relativamente estable. El apareo de los boidios es un tanto complejo, desde el momento en que la hembra libera las feromonas para atraer a los machos<sup>17</sup>.

### **E. Comercialización de la grasa.**

Durante mucho tiempo el comercio ilegal de animales exóticos ha propiciado la captura indiscriminada de estas dóciles serpientes, alterando su comportamiento, y tornándolas cada vez más agresivas por causas principalmente debidas al estrés y las malas condiciones en que las mantienen en espera de un posible comprador, y éste es uno de los dos principales problemas por el cual estas raras especies

de boidios, a veces terminan como “mascotas”, otras como animales de consumo humano en restaurantes chinos, donde la demanda y el precio es mayor, pero no son los únicos problemas que atraviesan los boidios, la pérdida del hábitat por la constante tala de los bosques para abrir campos de cultivo y la explotación maderera, están haciendo decrecer las poblaciones naturales de boas y anacondas, todo esto, sumado al calentamiento global, decidirá el futuro, nada prometedor, para este grupo de serpientes<sup>17</sup>.

### **2.2.3. Metodologías y fundamentos para el estudio fisicoquímico y caracterización de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

Un aceite o grasa cruda se compone en su mayoría de triacilgliceroles (más de 95%). Se denominan grasas neutras (sólidas) o aceites neutros (líquidos) a los triacilgliceroles según su estado físico a temperatura ambiente. Además de los triacilgliceroles, también hay pequeñas cantidades de diacilgliceroles, monoacilgliceroles y ácidos grasos libres<sup>23</sup>.

Los aceites y grasas se caracterizan mediante parámetros fisicoquímicos siguiendo las normas AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite) y la actual legislación peruana (NTP 151.400.2009), y otras determinaciones incluidas en la reglamentación sobre los aceites de oliva y otros aceites vegetales según CNE (Comité europea de Normalización) e ISO (Organización Internacional de estandarización). Los parámetros analíticos son: acidez, índice de peróxidos, índice de yodo, índice de saponificación, coeficientes de extinción a 270nm, índice de saponificación, composición de esteroides, composición en ácidos grasos y triglicéridos, estabilidad oxidativa, tocoferoles, e hidrocarburos alifáticos. Se determinan las propiedades físicas de viscosidad, densidad e índice de refracción<sup>24, 25</sup>.

Las grasas y aceites en contacto con el aire y expuestas a la luz, se enrancian, así mismo los ácidos grasos no saturados presentan

labilidad, debido a los dobles enlaces carbono-carbono; es entonces que a través de este grupo funcional, los aceites y grasas sufren ataques por diversos agentes químicos; la autooxidación se favorece en presencia de la Luz. Otras propiedades químicas de los aceites se derivan de su función éster; dicho grupo funcional puede ser convertido mediante hidrólisis a su correspondiente alcohol y ácido. A su vez, el índice de acidez influye en el proceso de enranciamiento<sup>26, 27</sup>.

Se ha confirmado que durante el proceso de enranciamiento de los distintos aceites se pueden formar los siguientes productos:

- Ácidos libres: fórmico, acético, propanoico, butanoico, pentanoico, hexanoico, heptanoico, octanoico, nonanoico, decanoico, azelanico (nonanodioico), suberico (octanodioico), sebacico (decanodioico), oxiestearico, dioxiestearico y cetoestearico.
- Aldehidos: fórmico, caprilico, azelanico, heptilico, nonilico (nonanal); a estos dos últimos aldehídos se debe principalmente el olor típico de los aceites rancios.
- Peroxidos y metilcetonas.
- Agua.
- Dióxido de carbono y monóxido de carbono

Existe una gran diferencia entre los distintos tipos de aceites, tanto en sus cualidades como en su precio. Por tanto, ha sido necesario establecer una serie de criterios objetivos para poder diferenciar entre ellos. El análisis del aceite de origen vegetal y animal, se lleva a cabo diversas determinaciones a través de métodos oficiales con el fin de evaluar la calidad del aceite, así como su pureza, basándose en las características descriptivas y determinados parámetros físico químicos<sup>28</sup>. Los métodos utilizados para el estudio fisicoquímico y caracterización de la muestra en estudio están descritos en la USP, la AOCS y la ISO.

### **2.2.3.1. Estudio Fisicoquímico.**

#### **a. Descripción.**

Las características organolépticas como el sabor y olor en muchos casos se indican como propiedades descriptivas y útiles de la sustancia, pero no están destinadas para su aplicación como prueba de identificación. Estas propiedades no pueden contribuir indirectamente a la evaluación preliminar de la integridad de una sustancia.

#### **b. Determinación de pH.**

Se define el pH como el valor dado por un instrumento potenciométrico (medidor de pH) apropiado, adecuadamente normalizado, capaz de reproducir valores de pH de hasta 0,02 unidades de pH que emplea un electrodo indicador sensible a la actividad del ión hidrógeno, el electrodo de vidrio y un electrodo de referencia apropiado. Un potenciómetro mide la concentración de hidrógenos libres. En un aceite o grasa el valor del pH ácido está determinado por la presencia de ácidos grasos libres en la muestra<sup>29</sup>.

#### **c. Determinación de Humedad.**

Se define como la determinación de cantidad de materia volátil de cualquier tipo que se elimina en las condiciones especificadas. La humedad y materias volátiles se determinan por calorimetría diferencial a 103°C +/- 2°C <sup>25</sup>.

La presencia de humedad en las grasas o un ambiente húmedo, puede ocasionar hidrólisis en los aceites y grasas por lo que es importante conservar estos productos en ambientes secos <sup>23</sup>.

#### **d. Determinación del peso específico.**

La determinación de la densidad de los aceites está relacionada a su identidad, pureza, fraude, etc., datos de mucha importancia durante el procesamiento y control de calidad<sup>23</sup>.

La densidad se define como la masa de una unidad de volumen de la sustancia a 25°C, expresada en kilogramos por metro cúbico o en gramos por centímetro cúbico. La determinación del peso específico sólo se aplica a líquidos, se calcula como el cociente entre el peso de un líquido en el aire a 25°C y el de un volumen igual al de agua a la misma temperatura. Si la sustancia es un sólido a 25°C, determinar el peso específico del material fundido a temperatura indicada en la monografía individual y referirse al agua a 25°C<sup>29</sup>. Se determinara el peso específico del aceite de grasa *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona" según se indica en la técnica de USP 38.

#### **e. Índice de saponificación.**

El índice de saponificación es el número de mg de hidróxido de potasio necesario para neutralizar los ácidos libres y saponificar los ésteres existentes en 1,0 g de la sustancia<sup>29</sup>. Este parámetro es uno de los criterios de pureza determinantes en los aceites que contienen cadenas de ácidos grasos insaturados, ya que, debido a su alto índice de insaturaciones, son susceptibles de auto-oxidación y productos hidroperóxidos y peróxidos orgánicos<sup>26</sup>. El índice de saponificación está relacionado con el promedio del peso molecular de los triglicéridos en la mezcla y se determina mediante la cantidad de hidróxido potásico necesario para saponificar una cierta cantidad de aceite. Un índice de saponificación alto indica un peso molecular promedio bajo y viceversa.

#### **f. Índice de yodo.**

El índice de yodo expresa el nivel de insaturación de una muestra. Este valor se deriva de la técnica de adición de yoduro a un compuesto insaturado o mezcla de compuestos que reaccionan cuantitativamente con los dobles enlaces. El número de gramos de yodo que reaccionan con 100g de sustancia, cuyo valor alto de índice de yodo en la muestra, indica mayor número de dobles enlaces disponibles. La determinación de índice de yodo en aceites que contienen dobles enlaces aislados, se basa en la adición estequiometría de yodo en las insaturaciones<sup>30</sup>.

La determinación del índice de yodo de las grasas y aceites animales y vegetales se realizará mediante el método de la farmacopea USP 38.

#### **j. Índice de acidez.**

La determinación de los ácidos grasos libres existentes en una muestra de aceite o grasa se puede realizar mediante la titulación con álcali. Aplicable a todos los aceites y grasas vegetales y animales, crudos o refinados. Los ácidos grasos libres son parte de la molécula del triacilglicerol, separados del glicerol generalmente por medio de hidrólisis que puede ser ocasionada por la acción de lipasas. La descomposición de las grasas y los aceites comestibles por hidrólisis tiene implicaciones en el sabor y olor<sup>23</sup>. La acidez de las grasas y los aceites fijos se expresa como el número de mL de álcali 0,1N requeridos para neutralizar los ácidos libres en 10,0 g de sustancia. La acidez se expresa frecuentemente como el Índice de Acidez, que es el número de mg de hidróxido de potasio necesario para neutralizar los ácidos libres en 1,0 g de la sustancia<sup>29</sup>.

#### **h. Índice de peróxido.**

El índice de peróxido es el número que expresa, en miliequivalente de oxígeno activo, cantidad de peróxido contenido en 1000g de la sustancia <sup>29</sup>.

Es una medida de oxígeno unido a la grasa en forma de peróxidos. Como producto de oxidación primarios se forman especialmente hidroperóxidos. Existen una serie de factores que influyen sobre la velocidad de la oxidación de las grasas. Unos retardándola como son ciertas sustancias denominadas antioxidantes y otras acelerándolas. Dentro de los últimos, los principales son: Luz, calor, trazas metálicas, catalizadores orgánicos, etc.<sup>31, 32</sup>.

#### **2.2.3.2. Caracterización de la grasa *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

La metodología empleada para la caracterización de la muestra se recoge en el apartado siguiente:

##### **a. Lectura en el espectrofotómetro Infrarrojo.**

Los estudios que se han realizado con espectroscopía de IR cercano muestran que los espectros contienen información sobre el grado de insaturación, insaturación total, número de carbonos y la composición de la fracción insaturada de los ácidos grasos <sup>28</sup>.

##### **Fundamento de la técnica:**

La absorción de radiación en la región infrarroja del espectro electromagnético produce cambios en la energía vibracional de las moléculas. Los cambios de energía son normalmente de entre  $6,10^3 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$  y  $42,10^3 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$ , que corresponde a  $250\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ , aunque algunas ocurren entre  $4000 \text{ cm}^{-1}$  y el comienzo de la región visible sobre  $12500 \text{ cm}^{-1}$ , en la región conocida como infrarrojo cercano. Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe experimentar un

cambio neto en su momento dipolar. El momento dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga de los átomos que forman la molécula y por la distancia entre ellos. Dado que las moléculas vibran, se producirá una fluctuación regular del momento dipolar lo que origina un campo que puede interactuar con el campo eléctrico asociado a la radiación IR. Si la frecuencia de la radiación iguala exactamente a la frecuencia de vibración natural de la molécula, ocurre una transferencia neta de energía que da lugar a un cambio en la amplitud de la vibración molecular; como consecuencia se absorbe la radiación<sup>28</sup>.

#### **b. Identificación en el espectrofotómetro UV – Visible.**

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar indicaciones sobre la calidad de una materia grasa, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Las absorciones en las longitudes de onda 270 a 232 nm se deben a la presencia de sistemas diénicos y triénicos conjugados<sup>30</sup>. El coeficiente de extinción molar a 270 y 232 nm se usa con frecuencia para detectar la presencia de compuestos oxidados anormales<sup>28</sup>.

#### **c. Determinación del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.**

Los ácidos grasos libres suelen analizarse por cromatografía de gases con columnas capilares en forma de ésteres volátiles, por lo general, ésteres metílicos. Empleando columnas capilares de gran longitud se pueden resolver de forma adecuada los ácidos grasos en función del número de átomos de carbono y de insaturaciones, e incluso se pueden llegar a separar isómeros geométricos y de posición de

dobles enlaces, es decir, se pueden determinar los ácidos grasos trans<sup>28</sup>.

#### **Fundamento de la técnica:**

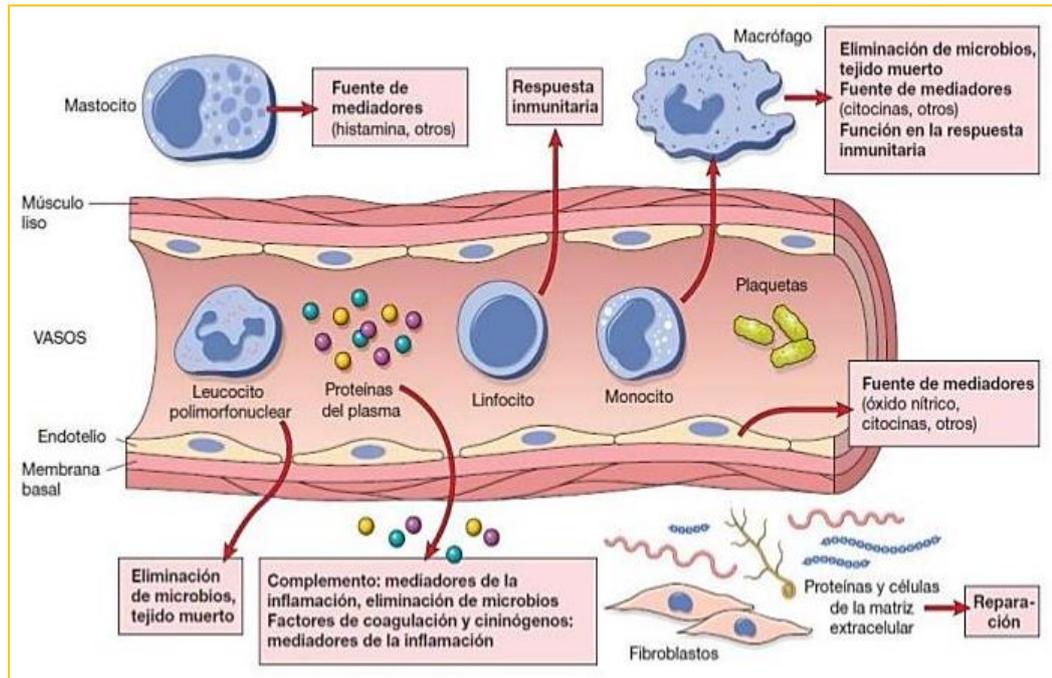
La cromatografía de gases es una técnica separativa en la cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases. Una de ellas es una fase estacionaria, mientras que la otra es una fase móvil gaseosa, esencialmente inerte, que se mueve a través del lecho de fase estacionaria que se encuentra en el interior de la columna<sup>28</sup>.

#### **2.2.4. Estudio farmacológico.**

**2.2.4.1 Inflamación:** Es la respuesta fisiopatológica inespecífica del tejido vivo, frente a una injuria. El proceso inflamatorio incluye una serie de fenómenos que pueden ser desencadenados por diversos estímulos (agentes infecciosos, isquemia, interacciones antígeno-anticuerpo y lesiones térmicas o físicas de otra índole) la cual entraña reacciones nerviosas, vasculares, humorales y celulares dentro del sitio lesionado<sup>33,34</sup>.

Durante la inflamación concurren tres hechos fundamentales que se representan de la siguiente manera<sup>35</sup>:

- a) Aumento del aporte sanguíneo a la zona afectada.
- b) Incremento de la permeabilidad capilar por retracción de las células capilares, permitiendo que atraviesen el endotelio moléculas de mayor tamaño.
- c) Los leucocitos (neutrófilos y macrófagos) y un poco más tarde los linfocitos salen de los capilares a los tejidos circundantes; hacia el lugar de la lesión, bajo los estímulos quimiotácticos.



**Figura 2.** Componentes de la respuesta inflamatoria aguda y crónica y sus principales funciones<sup>36</sup>.

#### 2.2.4.2. Tipos de inflamación.

La inflamación puede ser aguda o crónica en función de la naturaleza del estímulo y la eficacia de la reacción inicial para eliminar el estímulo o los tejidos lesionados<sup>36</sup>.

##### a. Inflamación aguda.

La inflamación aguda es una respuesta rápida a un agente lesivo, microbios y a otras sustancias extrañas que está diseñada para liberar leucocitos y proteínas plasmáticas en los sitios de lesión. En el foco lesivo, los leucocitos eliminan a los invasores y comienzan el proceso de digerir y deshacerse de los tejidos necróticos<sup>37</sup>.

La inflamación aguda tiene 2 componentes principales

- Cambios vasculares: alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento del flujo sanguíneo (vasodilatación) y a cambios estructurales que permiten a las proteínas plasmáticas abandonar la circulación (aumento de la permeabilidad vascular).

- Acontecimientos celulares: migración de los leucocitos de la microcirculación y acumulación en el foco de lesión (reclutamiento y activación celular). Los leucocitos principales en la inflamación aguda son los neutrófilos<sup>37</sup>.

#### **b. Inflamación crónica.**

La inflamación crónica es una inflamación de duración prolongada (de semanas y años). En contraste con la inflamación aguda, que se distingue por los cambios vasculares, edema y un infiltrado predominante de neutrófilos, la inflamación crónica se caracteriza por:

- Infiltración con células mononucleares, incluidos macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
- Destrucción tisular, en gran medida inducida por los productos de las células inflamatorias.
- Reparación, que implica proliferación de nuevos vasos (angiogénesis) y fibrosis<sup>35</sup>.

#### **2.2.4.3. Lípidos.**

Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Una de las características fundamentales de este grupo es su apolaridad e hidrofobicidad, lo que les hace insolubles en agua y solubles en disolventes apolares como el cloroformo, el éter o el hexano, lo que hace posible su extracción de las células y de los tejidos. Desempeñan diversas funciones en los tejidos, además son la fuente más importante, ya que cada gramo genera 9kcal (38.2Kj) <sup>38, 39</sup>.

A diferencia de las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos, los lípidos no son polímeros, sino que son moléculas bastante pequeñas que presentan una fuerte tendencia a asociarse

mediante fuerzas no covalentes<sup>39</sup>. Los lípidos cumplen una actividad biológica, unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos, otros son ácidos grasos indispensables, vitaminas y hormonas y pigmentos, etc. También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales. Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos; no hay una distinción entre ambos grupos, aun cuando algunos consideran que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a “temperatura ambiente”, mientras que los aceites son líquidos<sup>39,40</sup>.

La importancia de los lípidos es amplia, juegan un papel relevante en la nutrición, en la industria constituyen un ingrediente base para elaborar cosméticos, productos farmacéuticos, productos químicos y productos alimenticios<sup>40</sup>.

#### **a. Clasificación de los lípidos.**

El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarlas resulta difícil; existen diversos métodos para hacerlo, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos se basan en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan<sup>39</sup>.

Comúnmente los lípidos se dividen en tres grandes grupos en función de su estructura química: simples, compuestos y compuestos asociados. Los lípidos simples (insaponificables), no contienen ácidos grasos, abarcan las grasas y los aceites y por lo tanto resultan ser los más abundantes e importantes. Los lípidos compuestos (saponificables) son aquellos que están integrados por una parte lipídica y otra que no lo es, unidas covalentemente; destacándose los fosfolípidos y los glucolípidos. Finalmente, los lípidos derivados o asociados son todos aquellos que no se ubican en ninguna de las subdivisiones anteriores; en esta categoría están los ácidos

grasos libres, los carotenoides, las vitaminas liposolubles, el colesterol, etc.<sup>39,41</sup>.

#### **2.2.4.4. Ácidos grasos.**

Los lípidos más sencillos son los ácidos grasos, se presentan en grandes cantidades como componentes estructurales de los lípidos saponificables y sólo ocurren en pequeñas cantidades al estado libre (no esterificado). Todos tienen una cadena larga hidrocarbonada y un grupo carboxilo terminal<sup>39,41</sup>.

En forma pura, todas las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos (ésteres de ácidos grasos + glicerol). Las diferencias de estabilidad a la oxidación, plasticidad, estado físico, patrón de cristalización, índice de yodo, temperaturas de solidificación y fusión de las grasas y los aceites se deben fundamentalmente a sus ácidos grasos constituyentes<sup>39</sup>.

Los ácidos grasos pueden ser saturados (no tienen dobles enlaces), tener un enlace doble (monoinsaturados) o más dobles enlaces (poliinsaturados)<sup>40,42</sup>.

##### **a. Ácidos grasos saturados.**

Generalmente son de cadena recta, principalmente con número par de átomos de carbono, varían de 4 a 26 átomos de carbono y su temperatura o punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena; así los de C<sub>4</sub> a C<sub>8</sub> son líquidos a 25°C, mientras que los de C<sub>10</sub> en adelante son sólidos y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular. Su nomenclatura se basa en el empleo de los nombres comunes, tal como butírico, cáprico, etc, o bien añadiendo la terminación "oico" a la raíz griega que indica el tamaño de la cadena de átomos de carbono. Su numeración generalmente comienza a partir del grupo carboxilo. Los saturados son mucho más estables que los insaturados, ante la oxidación; sin embargo, en condiciones de temperatura muy

alta (más de 180°C) y en presencia de oxígeno, pueden sufrir reacciones oxidativas<sup>39</sup>.

### b. Ácidos grasos insaturados

Debido a sus insaturaciones, estos compuestos tienen una gran reactividad química, ya que son propensos a la saturación y a transformaciones oxidativas y de isomerización. Su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las dobles ligaduras, y siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los de una insaturación se llaman monoinsaturados, y a los de más de una se les denomina poliinsaturados. En general, los aceites líquidos a temperatura ambiente presentan más insaturados que las grasas sólidas, su nomenclatura consiste en indicar el tamaño de la cadena, la localización o número de las dobles ligaduras y añadiendo la terminación “enoico”<sup>39</sup>.

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	$C_{15}H_{29}COOH$
Oleico	Octadeca-9-enoico	$C_{17}H_{33}COOH$
Linoleico	Octadeca-9:12-dienoico	$C_{17}H_{31}COOH$
Linolénico	Octadeca-9:12:15-trienoico	$C_{17}H_{29}COOH$
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	$C_{19}H_{31}COOH$
Vaccénico	<i>trans</i> -Octadeca-11-enoico	$C_{17}H_{33}COOH$
Gadoleico	Eicosa-11-enoico	$C_{19}H_{37}COOH$
Erúcico	Docosa-13-enoico	$C_{21}H_{39}COOH$

**Figura 3.** Clasificación de ácidos grasos insaturados<sup>40</sup>.

Los ácidos grasos esenciales son aquellos ácidos grasos poliinsaturados que no pueden ser sintetizados por los mamíferos pero que son imprescindibles para determinadas funciones fisiológicas, por lo que deben ser ingeridos con la dieta. El término esencial utilizado para definir a los ácidos grasos Linoleico (C18:2) y Linolénico (C18:3), comprende la

necesidad no sólo de ser aportados en la dieta sino que también involucra la función que estos desempeñan en el organismo. A partir del ácido linoleico y el ácido linolénico, se pueden sintetizar otros ácidos grasos poliinsaturados como el ácido araquidónico (AA, C20: 4) y el ácido eicosapentanoico (EPA, C20: 5)<sup>43,44</sup>.

Los ácidos grasos poliinsaturados pueden a su vez subdividirse en dos grupos: ácidos grasos  $\omega$ -3 (n-3) y ácidos grasos  $\omega$ -6 (n-6). La nomenclatura n-3 o n-6 significa que el primer doble enlace, contando desde el metilo final, está en el tercer carbono o en el sexto carbono, respectivamente. Los miembros más simples de los ácidos grasos n-6 y n-3 son el linoleico y el alfa-linolénico respectivamente, aunque las células humanas no los sintetizan, sí pueden metabolizarlos mediante desaturación y elongación, lo que ocurre principalmente en el hígado<sup>45</sup>.

### **c. Importancia de los ácidos grasos esenciales.**

El estado nutricional de los individuos condiciona el adecuado funcionamiento del sistema inmune. Diversos estudios han demostrado que el incremento en la disponibilidad de ácidos grasos de la serie  $\omega$ -3 provoca disminución de la proporción de AA en los fosfolípidos de las membranas celulares, a favor de una mayor proporción de EPA y DHA, siendo este fenómeno dosis dependiente. Estudios adicionales han comprobado que la capacidad de reemplazar a los ácidos grasos  $\omega$ -6 se ha visto también en otras células como eritrocitos, plaquetas, células endoteliales, células neuronales, fibroblastos, células de la retina y hepatocitos<sup>44</sup>.

Estos ácidos grasos son reconocidos por su capacidad de regular las funciones del sistema inmune, a través de la modificación de funciones específicas entre los que podemos mencionar: reducción de la proliferación linfocitaria, síntesis de

citoquinas, modificación de la actividad de la células natural killer (NK) e incremento de la actividad fagocitaria. La bibliografía internacional propone diferentes mecanismos para explicar como los ácidos grasos dietarios llevan a cabo este accionar. Entre ellos podemos citar: cambios en la fluidez de la membrana celular, producción de peróxidos y eicosanoides y regulación de expresión de genes<sup>44</sup>.

Existen una variedad de estudios realizados en humanos que muestran los posibles efectos de los AGPIs en diferentes enfermedades, la mayoría de las investigaciones han enfocado al estudio de su consumo en la diabetes, algunos tipos de cánceres, enfermedades cardiovasculares entre otros. El consumo de AGPIs puede reducir la concentración de triacilgliceroles en la sangre a través de la oxidación de ácidos grasos por medio de la activación de PPAR $\alpha$  o a través de la represión de SREBP-1 que inhibe la lipogénesis; también puede ser benéfico en el control de ciertas enfermedades como la diabetes mellitus y la obesidad en la que los activan a PPAR $\alpha$  estimulando la oxidación de lípidos y disminuyendo la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática. En el caso del cáncer los AGPIs pueden servir como agentes citotóxicos para ciertas células tumorales. Debido a su efecto hipolipémico y a su efecto antiinflamatorio podrían tener efectos benéficos en la prevención de enfermedades cardiovasculares<sup>46</sup>.

El crecimiento y el desarrollo del feto dependen del aporte materno de los AGPIs. Se ha reportado una asociación entre una menor ingestión de vitaminas y AGPIs y una mayor incidencia de bajo peso al nacer, otros estudios han reportado una correlación entre la nutrición materna durante el tercer trimestre y los lípidos séricos de los recién nacidos. Dado que la composición de los ácidos grasos de la leche se modifica

con la dieta materna, se han observado incrementos de DHA en la leche de madres suplementadas con este ácido graso<sup>46</sup>.

#### **2.2.4.5. Mecanismos de producción de moléculas proinflamatorias**

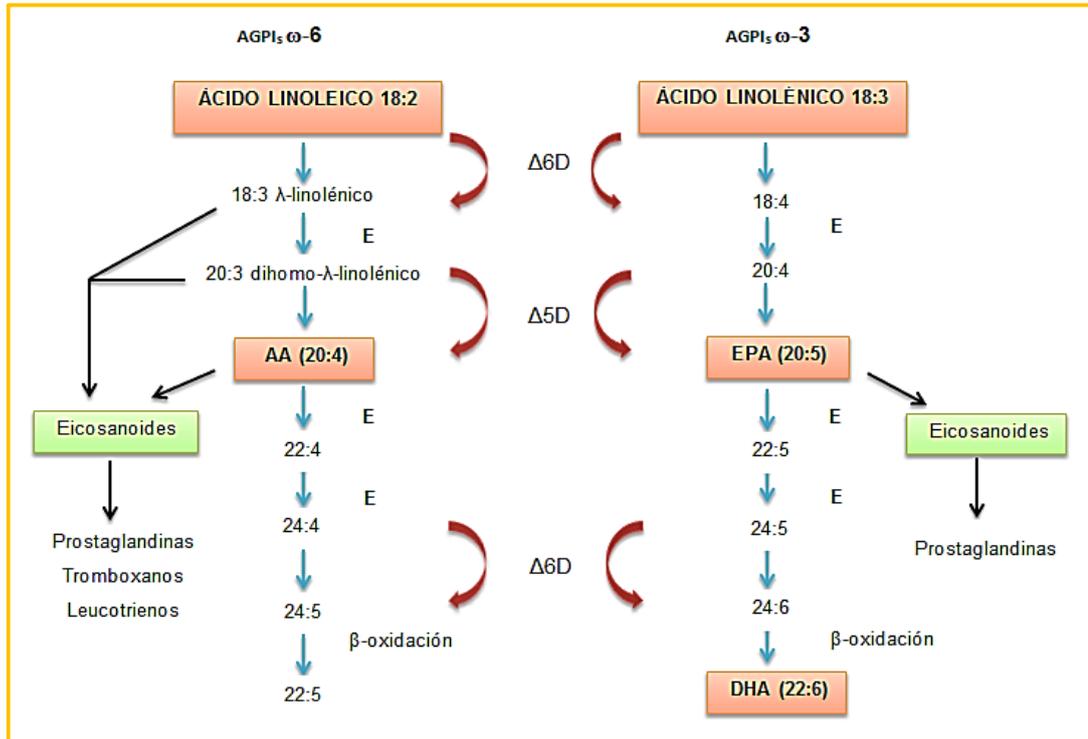
Los ácidos grasos poliinsaturados después de la ingestión por los animales, a través de la dieta o bien de productos farmacológicos, se convierten en otros de cadena más larga y más insaturados<sup>43</sup>. El ácido linoleico (C18:2  $\omega$ -6) es metabolizado mediante una secuencia alterna de desaturación y elongación dependiente de malonil coenzima A (coA) hasta ácido araquidónico o ARA (C20:4  $\omega$ -6). La misma vía metabólica usa el ácido linolénico (C18:3  $\omega$ -3) para producir ácido eicosapentanoico o EPA (C20:5  $\omega$ -3) y ácido docosahexanoico o DHA (C22:6  $\omega$ -3). Las enzimas que realizan las desaturaciones son la  $\Delta$ 6D y la  $\Delta$ 5D desaturasas. La primera desaturación es efectuada por la  $\Delta$ 6D y es el paso limitante en la síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados indispensables de cadena larga (AGPI<sub>S</sub>-CL). El ácido linolénico y el ácido linolénico compiten por las mismas enzimas  $\Delta$ 6D y la  $\Delta$ 5D desaturasas y se considera que esta última es también importante en la síntesis de ADH  $\omega$ -3. Esta competencia explica por qué el consumo elevado de ácido linoleico reduce el nivel de ADH  $\omega$ -3<sup>43,46,47</sup>.

El metabolismo enzimático de los ácidos grasos: DHA, AA,  $\lambda$ -linolénico (GLN  $\omega$ -6), dihomo- $\lambda$ -linolénico (DHGLN  $\omega$ -6) y EPA produce una amplia variedad de productos oxidados a los que, en conjunto, se les denomina eicosanoides (Figura 4). Dentro del grupo de eicosanoides se encuentran los leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas<sup>46</sup>.

El ácido araquidónico (AA) o ácido 5, 8, 11,14-eicosatetraenoico, un ácido graso insaturado de 20 carbonos que posee cuatro ligaduras dobles. En casi todos los tipos celulares, el AA se encuentra esterificado en las reservas de fosfolípidos y su concentración en estado libre es muy baja. Los principales eicosanoides son las prostaglandinas (PGs), los tromboxanos

(TXs) y los leucotrienos (LTs), aunque también se producen otros derivados del araquidonato, por ej.: Las lipoxinas<sup>48</sup>.

En primer lugar es necesario que el AA se libere desde su posición sn-2 de los fosfolípidos de la membrana, por acción de una o más lipasas del tipo fosfolipasa A<sub>2</sub> para que se produzca la síntesis de eicosanoides. Tres fosfolipasas como mínimo median la liberación del AA: fosfolipasa citosólica (cPLA<sub>2</sub>); secretora (sPLA<sub>2</sub>) e independiente del calcio (iPLA<sub>2</sub>)<sup>49</sup>. Los estímulos químicos y físicos activan la translocación dependiente de Ca<sup>2+</sup> de PLA<sub>2</sub> citosólica del grupo IV<sub>A</sub>, que tiene gran afinidad por AA en la membrana, donde hidroliza los enlaces éster sn-2 de los fosfolípidos de membrana (en particular fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina), liberando araquidonato. Bajo condiciones sin estímulos, el araquidonato liberado por iPLA<sub>2</sub> se reincorpora a las membranas celulares, de forma que hay una síntesis mínima de eicosanoides. Aunque cPLA<sub>2</sub> predomina en la etapa aguda de liberación de AA, sPLA<sub>2</sub> contribuye bajo condiciones de estimulación intensa sostenida en la producción de AA. Una vez liberada, una porción de AA se metaboliza con rapidez a productos oxigenados por diversos sistemas enzimáticos, lo que incluye las ciclooxigenasas (COX), lipooxigenasas (LOX) y CIP<sup>49,50</sup>. Después de la movilización, el AA se oxigena a través de cuatro vías separadas: las vías de la ciclooxigenasa (COX), lipooxigenasa, epoxigenasa P450 y la eicosanoide. Entre los factores que determinan el tipo de eicosanoide que se sintetizan están 1) la especie de sustrato lipídico, 2) el tipo de célula y 3) la manera en que se estimula la célula. Pueden formarse productos distintivos, pero relacionados a partir de precursores distintos al AA<sup>49</sup>.



**Figura 4.** Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a partir de ácido linoleico y ácido linolénico<sup>46</sup>.

#### 2.2.4.6. Ácidos grasos e inflamación.

La inflamación es la respuesta inmediata del organismo frente a una injuria o un proceso infeccioso. Por lo tanto, las prostaglandinas, los leucotrienos y demás compuestos relacionados cumplirán un papel importante en los procesos inflamatorios y en la regulación de la respuesta inmune. Actualmente se considera probado que el AA actúa como precursor de la serie 2 de prostaglandinas y tromboxanos y de la serie 4 de leucotrienos (LTB<sub>4</sub>), metabolitos de marcada acción proinflamatoria. Mientras los eicosanoides derivados del EPA tienen una menor capacidad inflamatoria (prostaglandinas y Tromboxanos de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5 (LTB<sub>5</sub>)<sup>43</sup>. Dentro de los efectos proinflamatorios atribuidos a la PGE<sub>2</sub> se destacan: estados febriles, aparición de eritema, incremento de la permeabilidad vascular y la vasodilatación y producción de dolor y

edema en la zona injuriada, a través de otros agentes como la histamina. Además se ha demostrado que la  $PGE_2$  inhibe la proliferación de linfocitos, disminuye la actividad de las células NK e inhibe la producción de algunas citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1, IL-2, IL-6 y el interferón- $\lambda$ , cumpliendo en este caso un rol inmunosupresor y antiinflamatorio<sup>44</sup>.

Los  $LTB_4$  incrementan la permeabilidad vascular y mejoran el flujo sanguíneo a nivel local, actúan como un potente agente quimioattractante de leucocitos, inducen la liberación de enzimas lisosomales, inhiben la proliferación linfocitaria y favorecen la actividad de las células NK. Por otra parte, se sabe que los  $LTB_4$  regulan la producción de citoquinas como el TNF, la IL-1, la IL-2, la IL-6 y el interferón- $\lambda$ . Finalmente el ácido 5-OH-eicosatetraenoico (5 HETE) promueve, mientras que el 15-OH-eicosatetraenoico (15HETE) inhibe la proliferación linfocitaria. En consecuencia el AA será precursor de una gran variedad de compuestos con funciones opuestas, donde el efecto fisiológico final dependerá de la concentración de cada uno de ellos, la frecuencia de síntesis y la sensibilidad de las células target. Por ello la alimentación rica en EPA y DHA lleva a un reemplazo parcial de AA en las membranas celulares, acompañado de una disminución en los eicosanoides de la serie 2; simultáneamente se ha observado una menor liberación de AA como respuesta a la inhibición provocada por los ácidos grasos  $\omega$ -3, de la fosfolipasa  $A_2$ <sup>44</sup>.

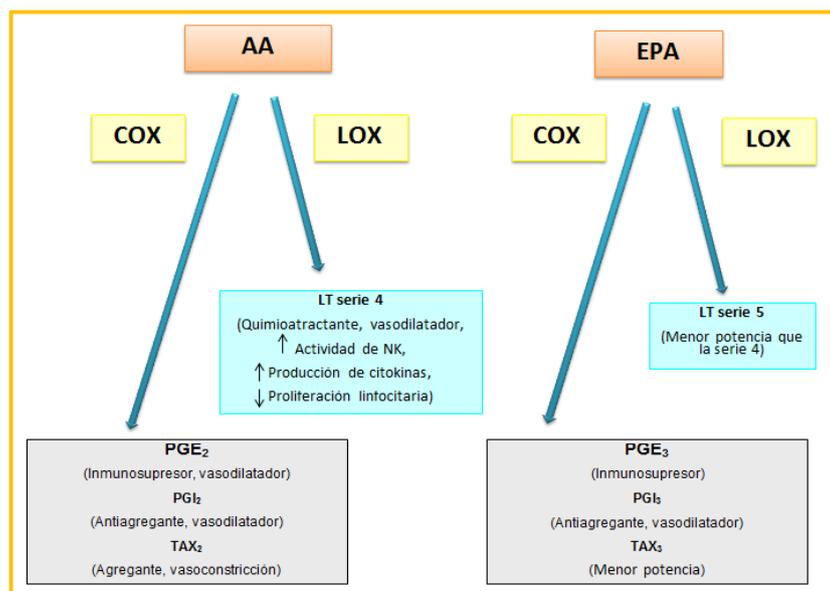
El EPA compite con el AA por las mismas rutas metabólicas, originando eicosanoides con una actividad biológica menos potente. La ciclooxigenasa dará lugar a la formación de PG y TX de la serie -3 y la lipooxigenasa a leucotrienos de la serie 5( $LTB_5$ ), caracterizados estos últimos por tener un efecto quimioattractante, mucho menos potente sobre los neutrófilos<sup>44</sup>.

Algunos autores afirman que los  $LTB_5$  y las  $PGE_3$  son inhibidores más potentes de la proliferación linfocitaria que los eicosanoides

derivados del AA. Sin embargo otros investigadores han sugerido que el efecto inhibitor no recaería en los eicosanoides producidos, sino en los propios ácidos grasos<sup>44</sup>.

Teniendo en cuenta lo anteriormente citado, si se modifica la proporción de ácidos grasos  $\omega$ -6:  $\omega$ -3 en la dieta es posible modificar la composición en ácidos grasos en las membranas celulares y con ello modificar el tipo de mediadores metabólicos producidos a partir de ellos a nivel celular, actuando al nivel de modificar las respuesta antiinflamatoria, autoinmune, vascular, etc. Diversos estudios realizados parecen confirmar que la relación óptima  $\omega$ -6:  $\omega$ -3 debería oscilar entre 5:1 y 10:1 para maximizar los beneficios de estas grasas<sup>43, 51</sup>.

Algunos científicos creen que las dietas con alto contenido de grasas omega 6 con relación al contenido de grasas omega 3 se pueden asociar con mayor prevalencia de enfermedades crónicas, entre ellas enfermedad cardiaca y ciertos tipos de cáncer. Esta teoría ha llevado a proponer el uso de una meta para la proporción de ingesta de grasas omega 6 / omega 3 para evaluar el riesgo para la salud <sup>51</sup>.



**Figura 5.** Efectos biológicos de los Eicosanoides derivados del AA y EPA<sup>44</sup>.

#### **a. Relevancia clínica de la COX - 1 y COX – 2.**

La ciclooxigenasa presenta 2 isomorfos principales: COX-1 y COX-2. La COX-1 se encuentra de forma permanente en la mayoría de las células como una enzima constitutiva que sintetiza prostanooides de acción reguladora en la homeostasis y se ocupa de las PG implicadas por ejemplo en la citoprotección gástrica, la agregación plaquetaria, la autorregulación de la hemodinámica renal y el comienzo del parto, mientras que COX-2 no está presente en condiciones normales y es inducida por un fenómeno inflamatorio cuando se activan, aspecto en el que destacan las principales citoquinas inflamatorias: interleucina (IL)-1 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), por tanto podría desempeñar una función más importante en el tratamiento antiinflamatorio. Cuando se activan se Ambas enzimas catalizan la incorporación de dos moléculas de oxígeno a cada molécula de AA para dar lugar a endoperóxidos muy inestables PGG<sub>2</sub> y PGH<sub>2</sub>. Las enzimas isomerasa o sintetasa los transforman rápidamente en PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PFG<sub>2 $\alpha$</sub> , TXA<sub>2</sub>, los cuales constituyen los productos finales con actividad biológica<sup>47,52</sup>. La COX-1 y la COX-2 tienen el mismo peso molecular y son muy similares en su estructura. La enorme similitud en su estructura explica que sus productos (prostaglandinas) sean los mismos, sin embargo tanto el sitio activo como la entrada en el canal de la COX-1, son más pequeños que los de la COX-2, de forma que acepta un número menor de estructuras como sustratos. Esto significa que casi todos los AINE inhibidores de la COX-1 también inhiben a la COX-2, pero que muchos inhibidores de la COX-2 poseen escaso poder bloqueante de la COX-1, lo cual tiene interesantes implicaciones clínicas<sup>53</sup>.

#### **2.2.4.7. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).**

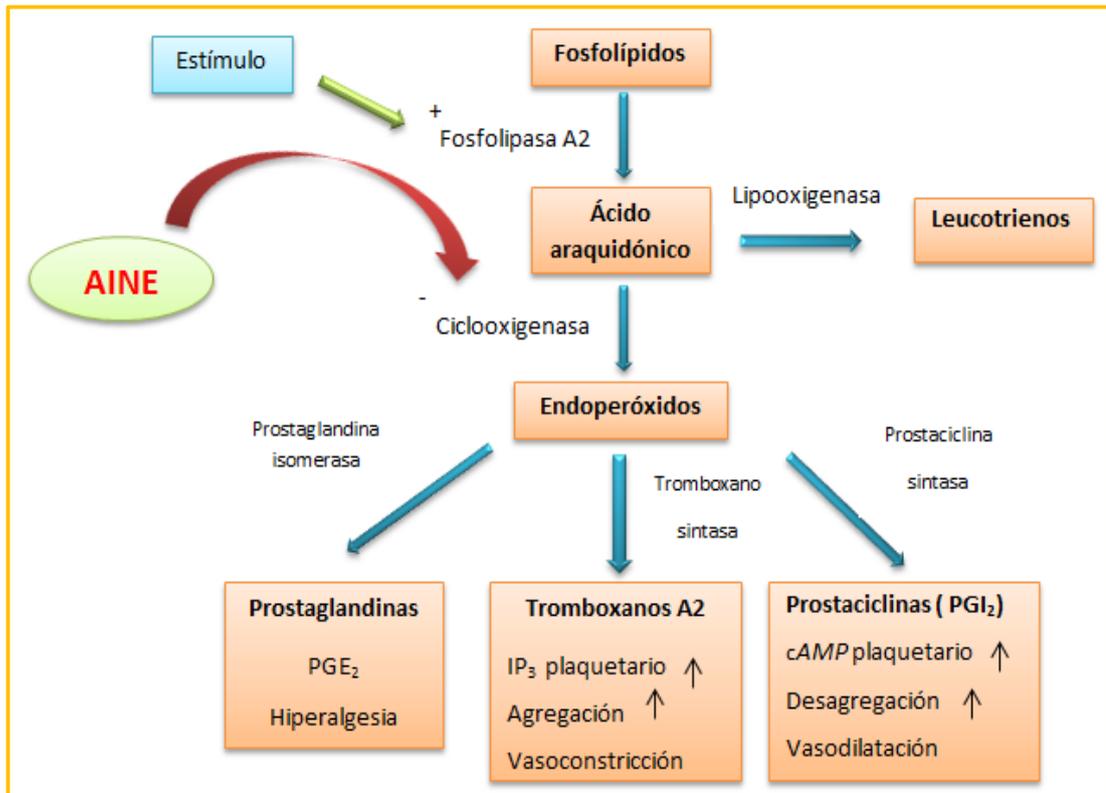
Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), son un grupo de fármacos de estructura química variada, estos

medicamentos ofrecen alivio sintomático del dolor y la inflamación. Actúan principalmente al inhibir las enzimas ciclooxigenasas que catalizan el primer paso en la biosíntesis de los prostanoídes, esto da lugar a que disminuyan la síntesis de prostaglandinas y tiene efectos benéficos, pero también perjudiciales<sup>53, 54</sup>.

La inhibición de la síntesis de prostaglandinas en la mucosa gástrica con frecuencia produce trastornos gastrointestinales (dispepsia, náuseas y gastritis). Estos efectos adversos más serios son la hemorragia y la perforación gastrointestinal. La COX está presente en el tejido como isoforma (COX<sub>1</sub>), pero en los sitios de inflamación las citosinas estimulan la inducción de una segunda isoforma (COX<sub>2</sub>). La inducción de la COX<sub>2</sub> es probablemente responsable de las acciones antiinflamatorias en tanto que la inhibición de la COX<sub>1</sub> sería responsable de su toxicidad gastrointestinal. La mayoría de los AINE de uso actual son de algún modo selectivos para la COX<sub>1</sub>, pero no hace mucho se lanzaron al mercado inhibidores selectivos de COX<sub>2</sub>, el celecoxib, el etoricoxib y el valdecoxib, poseen eficacia similar a la de los inhibidores no selectivos de la COX, pero la incidencia de perforación, obstrucción y sangrado gástrico se reduce por lo menos a la mitad<sup>54</sup>.

#### **a. Mecanismos de acción de los AINES.**

Los AINES bloquean la síntesis de prostaglandinas (PG) al inhibir, con mayor o menor potencia y especificidad las isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 Y COX-2.)<sup>53</sup>. La primera enzima en la vía sintética de la PG es la COX, también conocida como PG/H sintasa. Esta enzima convierte a AA en los productos intermedios inestables PGG<sub>2</sub> (prostaglandina G<sub>2</sub>) y PGH<sub>2</sub> (prostaglandina H<sub>2</sub>) y conduce a la producción de prostanoídes, TxA<sub>2</sub> (tromboxanos) y diversas PG<sup>54</sup>.



**Figura 6.** Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) <sup>54</sup>

### b. Diclofenaco.

Es un inhibidor de la ciclooxygenasa y en consecuencia de la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos. También inhibe la agregación plaquetaria y prolonga el tiempo de sangrado. Como antiinflamatorio es más potente que el AAS, pero menos que naproxeno e ibuprofeno. Las ventajas del diclofenaco son: además de inhibir síntesis de prostaglandinas, también disminuye las concentraciones del ácido araquidónico intracelular en leucocitos e inhibe la migración de los leucocitos al sitio de la inflamación y altera los procesos celulares e inmunológicos en los tejidos mesenquimatoso y conectivo, acción que contribuye al efecto antiinflamatorio útil en los procesos reumáticos<sup>55</sup>.

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Materiales.

##### 3.1.1. Equipos.

- Estufa Lab line (Lc - oven)
- Equipo de Disección (Duran).
- Balanza Semianalítica (Ohaus )
- Balanza metálica de acero inoxidable.
- Espectrofotómetro Infrarrojo (Espectrofotómetro FT-IR, Marca: Perkin Elmer ).
- Espectrofotómetro UV-visible (Marca : Varian).
- Cromatógrafo de gases (Marca: Perkin Elmer; modelo: Clarus 600).

##### 3.1.2. Materiales de Vidrio y otros.

- Matraz de vidrio (pyrex).
- Beacker de vidrio (pyrex).
- Bagueta de vidrio.
- Viales de vidrio.
- Jeringas estériles de 1cc.
- Guantes quirúrgicos.
- Gasa estéril.
- Marcadores de diferentes colores.
- Pinza de madera.
- Hisopos estériles.
- Placas Petri.
- Picnómetro de 25 mL.
- Condensador.
- Sacabocado.
- Espátula.
- Pinzas.
- Buretas.
- Probetas.

- Pipetas (Germany).
- Propipeta.
- Soporte universal.
- Magnetos.
- Tabla de madera.
- Luna de reloj de vidrio (pyrex).

### **3.1.3. Reactivos, solventes y otros.**

- Agua destilada.
- Etanol absoluto Q.P.
- Metanol Q.P.
- Etanol 70%.
- Etanol 96 %.
- Alcohol isopropílico Q.P.
- Cloroformo Q.P.
- Ácido clorhídrico Q.P.
- Éter etílico Q.P.
- Anhídrido acético Q.P.
- Fenolftaleína SR.
- Hidróxido de sodio.
- Ioduro de potasio.
- Tiosulfato de sodio.
- Hidróxido de potasio alcohólico.
- Ioduro de potasio.
- Iodo bromuro.
- Almidón SR.
- Fenolftaleína SR.

### **3.1.4. Material biológico**

- Grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona".
- Ratones albinos cepa Balb/C53.

### **3.2. Método.**

#### **3.2.1. Población de estudio.**

La población de estudio está constituida por 48 ratones entre machos y hembras de 25-30g. Procedentes del “Centro Nacional de productos Biológicos” del Instituto Nacional de Salud de Chorrillos-Lima.

#### **Criterios de exclusión.**

1. Animales de experimentación (ratones) que hayan sido utilizados en otras pruebas.
2. Presentar algún tipo de laceración y/o heridas en la piel.

#### **3.2.2. Tipo de investigación.**

- Según el control o no de variables: Experimental.
- Según periodo de estudio: Transversal.
- Según Propósito: Aplicada.
- Según ocurrencia de hechos y registro de la información: Prospectiva.

#### **3.2.3. Lugar de ejecución.**

Las actividades de investigación se realizaron en los Laboratorios de Productos Naturales y de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener; eventualmente los análisis fisicoquímicos se realizaron en el área de control de calidad del laboratorio farmacéutico Gencopharmaceutical.

La caracterización de la grasa se realizó en el laboratorio Farmaceutical del pacifico y en el Laboratorio AC Farma. La determinación del efecto antiinflamatorio se realizó en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.

### **3.3. Procedimiento metodológico.**

#### **3.3.1. Identificación de la zona de comercio y de la especie de mayor demanda.**

Teniendo en cuenta los puntos estratégicos de comercialización de grasa de diversas especies de origen animal, así como la demanda en particular de la especie *Boa constrictor constrictor*, para la obtención de la grasa del mismo, se consideró al emporio comercial de la Victoria “Gamarra” como principal centro de demanda de la grasa de la especie en estudio (*Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”); siendo esta de mayor adquisición por los comerciantes y consumidores.

La obtención de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” fue proporcionada por el Zoocriadero “Oswaldo Meneses” del Instituto Nacional de Salud, tras el fallecimiento de la especie por problemas de aclimatación.

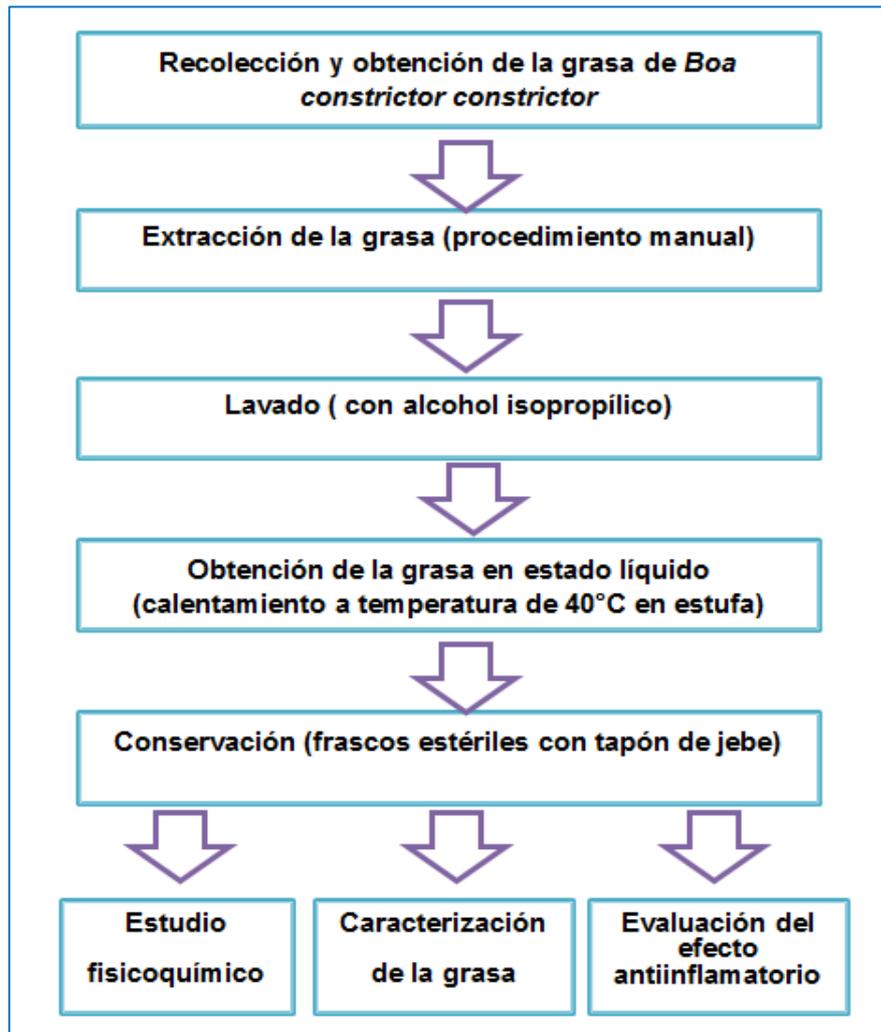
### **3.3.2. Identificación de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

La identificación de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” se realizó en el serpentario del Instituto Nacional de Salud, tras la verificación del fallecimiento del mismo.

### **3.3.3. Extracción de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

La extracción de la grasa de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” se realizó después de la verificación del fallecimiento del mismo, donde se procedió a retirar la grasa de la zona ventral de la especie.

La grasa se lavó con alcohol isopropílico, luego se colocó en una estufa con una temperatura de 40°C, para la obtención en su estado líquido (grasa fundida). Inmediatamente después, se filtró con gasa estéril y se guardó en un frasco estéril con tapón de jebe, para su estudio fisicoquímico, instrumental y farmacológico.



**Figura 7.** Preparación, obtención y estudio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.

#### 3.3.4. Estudio fisicoquímico.

El estudio fisicoquímico se realizó con la grasa tal cual fundida a 40°C. Las pruebas fisicoquímicas realizadas fueron: descripción, peso específico, pH, determinación de la humedad, índice de acidez, índice de peróxido, índice de yodo e índice de saponificación. Las pruebas se realizaron según la metodología consignada en farmacopea USP 38 y métodos oficiales descritos y en la ISO edición 1998, aplicadas a grasas y aceites de origen animal y vegetal <sup>29, 56</sup>.

Las pruebas fisicoquímicas fueron desarrolladas en el laboratorio farmacéutico Gencopharmaceutical con el apoyo del analista

Roxana Salcedo. Asimismo, para el ensayo de índice de acidez, índice de yodo e índice de saponificación se desarrollaron en diferentes días utilizando la metodología según USP 38.

#### **a. Descripción**

En el análisis descriptivo, la evaluación de olor, sabor y color, se realizaron en función a la percepción sensorial del analista.

#### **b. Determinación de pH.**

La medición de pH de la muestra se realizó de manera directa. Primero se ajustó el rango de calibración del potenciómetro con soluciones de buffer 4,00 y 7,00 rango establecido según referencia; luego se introdujo el electrodo del potenciómetro en un volumen de 20 mL de muestra de grasa en su estado líquido (grasa fundida); finalmente se esperó que la medición se estabilizara para anotar la lectura del valor del pH de la muestra. Las mediciones se realizaron a la temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **c. Determinación de Humedad.**

Se pesan de 5g de la muestra en un vaso tarado que haya sido secado y enfriado previamente en el desecador. Se calienta la muestra sobre la placa eléctrica, se gira el vaso lentamente para evitar que salpique la muestra si hay ebullición muy rápida. No se debe calentar la muestra por arriba de  $103^{\circ}\text{C}$ , excepto al final de la prueba<sup>56</sup>. La aproximación del punto final se juzgó por el cese de burbujas de vapor y también por la ausencia de espuma. Se juzgó el punto final colocando un vidrio de reloj limpio y seco sobre el vaso. La presencia de vapor indicó la condensación sobre el vidrio de reloj. Se calienta momentáneamente al punto de humeo incipiente cuando el punto final aparente ha sido alcanzado, se debe tener precaución de no sobrecalentar. Se enfría la muestra a temperatura ambiente en el desecador y se pesa. Se expresa el resultado como:

$$\% \text{ Humedad y materia volátil} = [(M_1 - M_2) / M_1] \times 100$$

Dónde:

$M_1$  = peso de la muestra inicial en gramos

$M_2$  = peso de la muestra final en gramos

#### **d. Determinación del peso específico.**

Se seleccionó un picnómetro limpio y seco que haya sido previamente calibrado mediante la determinación de su peso y el peso de agua purificada contenida en él a 25°C. Se ajustó la temperatura del líquido aproximadamente a 20°C y luego se llenó el picnómetro. Inmediatamente después se ajustó la temperatura del picnómetro lleno a 25°C, y se retiró todo exceso de líquido para pesar<sup>29</sup>.

El peso específico del líquido es el cociente que se obtiene al dividir el peso del líquido contenido en el picnómetro por el peso del agua contenida en éste, ambos determinados a 25°C, a menos que en la monografía individual se especifique algo diferente.

Calculo:

$$\text{Peso específico} = (P_m - P_v) / (P_{H_2O} - P_v)$$

$P_m$  = Peso en gramos del picnómetro con la muestra.

$P_{H_2O}$  = Peso en gramos del picnómetro con agua.

$P_v$  = Peso en gramos del picnómetro vacío.

#### **e. Índice de saponificación.**

Se colocó 1g de la sustancia, pesados con exactitud, en un matraz tarado de 250mL y se agregó 25mL de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N. Se calentó el matraz en un baño de vapor, bajo un condensador adecuado para mantener el reflujo durante 30 minutos, rotando el contenido con frecuencia. Se agregó a continuación 1 mL de fenolftaleína SR para la valoración del exceso de hidróxido de potasio con ácido clorhídrico 0,5 N SV. Realizar una determinación con un blanco en las mismas condiciones.

Calculo:

$$\text{Resultado} = [M, \times (V_8 - V_1) \times N] / W$$

M, = peso molecular del hidróxido de potasio, 56, 11

V8 = volumen de ácido clorhídrico 0,5 N consumido en la prueba del blanco (mL).

V7 = volumen de HCl 0,5 N consumido en la prueba real (mL).

N = normalidad de HCL

W = peso de la sustancia tomada para la prueba (g).

#### **f. Índice de yodo.**

##### **Procedimiento (Método 1).**

Se transfiere 0,2g a un matraz de 250mL, disolver en 10mL de cloroformo, agregar 25mL de yodobromuro SR, tapar el vaso en forma segura y dejar en reposo durante 30 minutos, protegido de la luz, agitando ocasionalmente. Luego agregar 30mL de yoduro de potasio SR y 100mL de agua respectivamente, valorar el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N SV, agitando minuciosamente después de cada adición de tiosulfato. Cuando el color del yodo se torne muy pálido, agregar 3mL de almidón SR y continuar la valoración con tiosulfato de sodio 0,1 N SV hasta que el color azul desaparezca. Realizar una prueba blanco al mismo tiempo con las mismas cantidades de los mismos reactivos y de la misma forma.

Calculo:

$$\text{Resultado} = [A, \times (V_a - V_5) \times N] / (10 \times W).$$

A, = peso atómico del yodo, 126,90

V<sub>a</sub>= volumen de tiosulfato de sodio 0, 1 N SV consumido por la prueba del blanco (mL)

V<sub>5</sub>= volumen de tiosulfato de sodio 0, 1 N SV consumido por la prueba real (mL)

N = normalidad exacta del tiosulfato de sodio SV

W = peso de la sustancia tomada para la prueba (g).

#### **g. Índice de acidez.**

##### **Procedimiento (Método 1).**

Se disuelve aproximadamente 10,0 g de la sustancia, pesados con exactitud en 50mL de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y éter (que se haya neutralizado a la fenolftaleína con hidróxido de sodio 0,1 N contenidos en un matraz. Si la muestra de prueba no se disuelve en el disolvente frío, conectar el matraz a un condensador adecuado y entibiar lentamente, agitando con frecuencia, hasta que la muestra se disuelva. Agregar 1mL de fenolftaleína SR y valorar con hidróxido de sodio 0,1 N SV hasta que la solución permanezca de color ligeramente rosado después de agitar durante 30 segundos. El porcentaje de ácidos grasos libres, en la mayoría de las grasas y aceites, se calcula como oleico.

Calculo:

$$\text{Resultado\% ácido oleico} = (M, \times V) \times (N/W)$$

M, = Masa molecular del ácido graso en que se expresa la acidez  
(% ácido oleico)= 28,2

V = volumen (mL).

N = normalidad de la solución de KOH.

W= peso de la muestra tomada (g).

#### **h. Índice de peróxidos.**

Colocar aproximadamente 5g de la sustancia, pesada con exactitud, en un matraz Erlenmeyer de 250mL con tapón de vidrio esmerilado. Agregar 30mL de una mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3:2), agitar hasta disolver y agregar 0,5mL de solución de yoduro de potasio saturada. Agitar durante 1 minuto exactamente y agregar 30 mL de agua. Valorar con tiosulfato de sodio 0,01 N SV, agregando lentamente la solución volumétrica y agitando continuamente, hasta que el color amarillo desaparezca casi por completo. Agregar 5 mL de almidón SR y continuar la valoración, agitando enérgicamente, hasta que desaparezca el color azul. Realizar una determinación con un blanco en las mismas condiciones.

Calculo:

$$\text{Resultado} = (1000 (V_r - V_8) \times N) / W$$

$V_r$  = volumen de tiosulfato de sodio 0,01 N consumido en la prueba real (mL).

$V_8$  = volumen de tiosulfato de sodio 0,01 N consumido en la prueba del blanco (mL).

$N$  = normalidad exacta de la solución de tiosulfato de sodio.

$W$  = peso de la sustancia tomada para la prueba (g).

### 3.3.5. Caracterización de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”

El estudio de caracterización se realizó con la muestra “tal cual” previa calentamiento a 40°C (grasa fundida), las pruebas que se realizaron fueron: Lectura en espectrofotómetro infrarrojo, lectura en espectrofotómetro UV–visible y la determinación del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases. Las pruebas se realizaron siguiendo los lineamientos de la farmacopea USP 38 y métodos oficiales descritos en la AOCS edición 1997 aplicadas a grasas y aceites de origen animal y vegetal <sup>8, 28, 29</sup>.

El análisis para la caracterización de grasa de la muestra, a través del espectrofotómetro Infrarrojo y UV-visible se analizaron el mismo día y diferente día para el análisis por cromatografía de gases.

#### 3.3.5.1. Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.

La grasa de la *Boa constrictor constrictor* se calentó a 40°C, se enfrió a temperatura ambiente por 10 min y se procedió a leer la muestra tal cual directamente en el equipo en un rango de número de ondas de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  para obtener el espectrograma correspondiente a la muestra.

Equipo : Espectrofotómetro infrarrojo

Marca : Perkin Elmer

Modelo: Spectrum One FT-IR

### **3.3.5.2. Lectura en el espectrofotómetro UV–visible de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

La grasa de la *Boa constrictor constrictor* se calentó a 40°C, se enfrió a temperatura ambiente por 10 min y se procedió a pesar con precisión aproximadamente 50,0 mg de la muestra tal cual en una fiola de 10 mL previamente tarado y se enraso con metanol, obteniendo una concentración de 5 mg/mL. Se agitó para homogenizar la suspensión resultante. Se realizó un barrido de la muestra tal cual a las longitudes de onda comprendidas para el rango ultravioleta entre 200 nm y 450 nm, obteniendo una curva espectral.

Equipo : Espectrofotómetro UV-visible.

Marca : Agilent.

Modelo : Cary 60.

### **3.3.5.3. Determinación del perfil de ácidos grasos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” por cromatografía de gases.**

Mediante la metodología de la AOCS Official Method Ce 1b-89, Fifth Edición 1997 Fatty Composition by GCL, se analizó la muestra de grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”. La muestra fue sometida a una reacción de saponificación y esterificación para obtener ésteres de ácidos grasos, donde cada determinación se realizó en duplicado, de esta forma se obtuvo el perfil porcentual de los ácidos grasos, expresados como porcentajes de esteres de ácidos grasos. Para el análisis de los ácidos grasos en cuanto a su identificación de los picos se realizó por comparación con los tiempos de retención de los estándares, determinando la concentración tanto de ácidos grasos saturados como insaturados <sup>57</sup>.

Para el cálculo de % de área para cada éster de ácido graso se emplea la normalización de aéreas el cual es un cálculo de

porcentaje de áreas que se asume que es igual al porcentaje en peso<sup>58-60</sup>.

$$\text{Formula: } \% \text{ de área de X} = \frac{AX}{\sum A} \times 100$$

**AX** : Área del Ester de ácido graso

$\sum A$  : Sumatoria de todas las áreas de esteres de ácidos grasos

### 3.3.6. Estudio farmacológico.

#### 3.3.6.1. Evaluación del efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”

##### A. Método de edema inducido por xilol Q.P en pabellón auricular de ratón<sup>61</sup>.

El método del edema inducido por agentes irritantes como xilol Q.P en el pabellón auricular es utilizado para la investigación de agentes antiinflamatorios de uso tópico. En los procesos de inflamatorios agudos como el edema auricular promueven mediadores inflamatorios como la histamina, cininas, fosfolipasas, prostaglandinas, leucotrienos y entre otros<sup>62</sup>. Estos mediadores inducen el edema mediante la vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular e inducen la migración de leucocitos y la actividad de especies reactivas: peróxido de hidrogeno y otros<sup>63, 64</sup>.

##### B. Formulación de la crema:

Las cremas a diferentes concentraciones fueron elaboradas por el docente Químico Farmacéutico Cano Pérez Carlos Alfredo de la Universidad Norbert Wiener, teniendo la siguiente composición:

- Alcohol cetílico 4% (agente espesante, emoliente)
- Acido esteárico 2 % (emoliente, emulgente)
- Alcohol cetoesteárico 6% (agente emulsificante)
- Vaselina líquida 1,5 % (emoliente y protector dermatológico)
- Glicerina 4% (emoliente)
- Agua destilada csp 100 %

### **Preparación de la crema:**

Se procedió a preparar la fase oleosa (ácido esteárico, vaselina líquida, glicerina) a una temperatura de ebullición a 80°C en un beacker de 500mL, en otro beacker la fase acuosa (alcohol cetílico, alcohol cetosteárico), se mezcló la fase acuosa en la fase oleosa y se completó con agua hasta formar una emulsión completa sin grumos con constante agitación. Posteriormente, para finalizar se colocó el extracto a diferentes concentraciones en potes de 100g.

### **C. Muestras en estudio.**

Las muestras en estudio fueron las siguientes:

- Cremas elaboradas a base de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” al 15%, 20% y 30% de concentración.
- Grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.
- Fármaco de referencia diclofenaco en crema al 1%.

### **D. Distribución de la muestra.**

Se formaron lotes de 8 ratones albinos entre hembras y machos de aproximadamente 25-30 g de peso corporal que estuvieron en ayuno previo de 12 horas antes de iniciar el ensayo, siendo distribuidos de forma aleatoria en los siguientes grupos de estudio:

- Grupo I: (Grupo control negativo): Se administró xilol Q.P. como agente irritante y 0,1 mL/oreja de placebo.
- Grupo II (Grupo referencia): Se administró xilol Q.P. como agente irritante y como tratamiento 0,1mL/oreja de diclofenaco crema al 1%.
- Grupo III: Se administró xilol Q.P. como agente irritante y como tratamiento 0,1 mL/oreja de la grasa de *Boa constrictor*

*constrictor* “Boa Mantona” en su estado líquido (grasa fundida).

- Grupo IV: Se administró xilol Q.P. como agente irritante y como tratamiento 0,1 mL/oreja de la crema elaborada al 15% a base de grasa de *Boa constrictor constrictor*.
- Grupo V: Se administró xilol Q.P. como agente irritante y como tratamiento 0,1 mL/oreja de la crema elaborada al 20% a base de grasa de *Boa constrictor constrictor*.
- Grupo VI: Se administró xilol Q.P. como agente irritante y como tratamiento 0,1 mL/oreja de la crema elaborada al 30% a base de grasa de *Boa constrictor constrictor*.

#### **E. Procedimiento experimental**

En el ensayo se tuvo en cuenta la edad y peso de los animales de experimentación. Se pesaron los ratones y se formaron 6 grupos de 8 ratones, de pesos muy semejantes. Se aplicó en forma tópica una pequeña cantidad del agente irritante (xilol Q.P) a todos los ratones de cada grupo, para ello se utilizó un hisopo estéril y se frotó por cinco veces en cada superficie (externa e interna) del pabellón auricular del ratón. El agente irritante se aplicó tanto en la oreja derecha como en la izquierda. Luego de 20 minutos las orejas derechas de cada grupo se aplicó lo siguiente: un primer grupo control se le aplicó el placebo, segundo grupo el fármaco diclofenaco en crema al 1%, tercer grupo el aceite puro y a los tres grupos restantes las cremas elaboradas a partir de la grasa de *Boa constrictor* al 15, 20, 30% de concentración respectivamente. En todos los casos se cubre la superficie de la oreja con la crema de manera uniforme.

**Tabla 1.** Procedimiento de inflamación en la oreja de ratón.

PROCEDIMIENTO DE INFLAMACION EN LA OREJA DE RATON			
Grupo	Inicio Oreja derecha	Inicio Oreja izquierda	Después de 20 min. O.D
Grupo I	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Placebo
Grupo II	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Diclofenaco 1%
Grupo III	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Aceite
Grupo IV	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Crema 15%
Grupo V	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Crema 20%
Grupo VI	Xilol Q.P	Xilol Q.P	Crema 30%

En la tabla1 se observa el inicio del procedimiento inflamatorio tras la administración de xilol Q.P en cada superficie (externa e interna) del pabellón auricular del ratón, luego de 20 minutos se administró los distintos tratamientos sólo en la oreja derecha.

#### **F. Técnica de medición.**

Transcurrido cuatro horas después de la aplicación de los distintos tratamientos, se sacrificó a los animales por dislocación cervical y se procedió a cortar con un sacabocado porciones circulares de 7 mm de diámetro de la parte central de la oreja inflamada y de la oreja tratada, se procedió a pesar inmediatamente y por separado; tomando nota de los respectivos pesos. Los datos obtenidos serán evaluados para la determinación de efecto antiinflamatorio de la grasa de la *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona"<sup>64</sup>.

La evaluación del efecto antiinflamatorio se realizó en función de la reducción de edema inducido como resultado después de la aplicación de los tratamientos en estudio<sup>63; 64</sup>.

Se calcula por diferencia de peso de la oreja no tratada y la oreja tratada:

[Delta de peso (mg)=  $\Delta$  peso (mg) = peso no tratada - peso tratada].

Finalmente se expresaron los resultados como porcentaje de inhibición del edema calculado con la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = 100 * \frac{(\Delta \text{ peso grupo control} - \Delta \text{ peso tratamiento})}{(\Delta \text{ peso grupo control})}$$

### **G. Tratamiento estadístico de los datos.**

El procesamiento de datos se analizó utilizando Microsoft Excell 2016 y el programa Estadístico SPSS versión 17. Asimismo los datos obtenidos de la diferencia de pesos (mg) de la oreja tratada y la oreja no tratada fueron procesados para un análisis estadístico descriptivo e inferencial, determinando la media  $\pm$  desviación estándar (DE). Asimismo se analizó estadísticamente utilizando la prueba de ANOVA DE UN FACTOR, comparando las medias a través del análisis de varianza para evidenciar el grado de dispersión de los datos. Para la comparación de las medias entre los distintos grupos de tratamientos se utilizó la prueba de múltiples comparaciones (MDS), teniendo en cuenta una significancia estadística a una  $p < 0,05$ .

#### IV. RESULTADOS.

##### a. Estudio fisicoquímico.

**Tabla 2.** Resultado del estudio fisicoquímico de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona".

PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS		
Ensayo	Resultados	Referencia
Descripción	Líquido aceitoso transparente, poco espeso, de color amarillo claro con olor y sabor leves característico.	T. propia
pH(25 °C)	4,7	USP 38
Humedad (%) *	0,4315%	ISO 662 2nd. Ed. 1998.
Peso específico	0,9136 g/mL	USP 38
Grasas y aceites fijos Ácidos grasos libres	1,11 %	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de peróxido	5,63 meq/kg	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de Yodo(g/100g)	65,61 %	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de Saponificación	197,34%	USP 38

##### VER ANEXO 2

En la tabla 2 se observa los valores obtenidos para cada ensayo para el estudio fisicoquímico desarrollada en diferentes días

**b. Caracterización de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

**Tabla 3.** Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa tal cual de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona

$\mu$ (cm <sup>-1</sup> )	Grupos funcionales	
2910,7627	Correspondiente a la señal C-H longitudinal en :	-CH <sub>3</sub>
2849,8335	Correspondiente a la señal C-H longitudinal en :	-CH <sub>2</sub> -
1753,6343	Correspondiente a la señal C=O longitudinal en:	Esteres
1450,1003	Correspondiente a la señal C-H en :	-CH <sub>2</sub> -

**VER ANEXO 3**

En la tabla 3 se describe las bandas de absorción obtenidas en el espectrograma de la muestra de la grasa leída tal cual, en cada uno de los cuales se señala su número de onda correspondiente a grupos funcionales presentes en la muestra tal cual, que no necesariamente corresponde a los grupos funcionales del ácido graso de la muestra.

**Tabla 4.** Lectura en espectrofotómetro UV-Visible de la grasa tal cual de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.

Longitud de onda 200 nm a 450 nm	Absorbancia
Pico a 230 nm	0,899 Abs.

En la tabla 4 se observa la absorbancia a una máxima longitud de onda determinado en el espectrograma de la muestra de a grasa tal cual a una concentración de 5mg/mL en metanol. Asimismo el pico de absorbancia puede deberse otros compuestos presentes en la muestra y no necesariamente corresponder a compuestos dienicos conjugados característico de los ácidos grasos.

**Tabla 5.** Perfil de ácidos grasos obtenidos por cromatografía de gases.

ÁCIDOS GRASOS	Cn:m	Contenido (%)
Ácido Mirístico	14:0	0,7
Ácido Palmítico	16:0	23,3
Ácido Palmitoleico	16:1 ω7	4,6
	16:2 ω4	0,0
Ácido Hexadecatrienoico	16:3 ω4	0,2
Ácido Esteárico	18:0	7,7
Ácido Oleico	18:1 ω9	35,6
	18:1 ω7	2,7
Ácido Linoleico	18:2 ω6	8,7
Ácido Linolénico	18:3 ω4	0,1
	18:3 ω3	9,9
Ácido Octadecatetraenoico	18:4 ω3	0,3
Ácido Araquídico	20:0	0,2
Ácido Eicosenoico	20:1 ω9	0,5
Ácido Eicosadienoico	20:2 ω6	0,2
Ácido Eicosatrienoico	20:3 ω6	0,1
	20:4 ω6	0,8
Ácido Araquidónico	20:3 ω6	0,3
Ácido Araquidónico	20:4 ω6	0,0
Ácido Eicosapentaenoico	20:5 ω3	0,1
Ácido Docosanoico	22:0	0,0
Ácido Docosenoico	22:1 ω11+9	0,1
Ácido Heneicosapentaenoico	21:5 ω3	0,0
Ácido Docosatetraenoico	22:4 ω6	0,3
Ácido Docosapentanoico	22:5 ω6	0,1
	22:5 ω3	0,3
Ácido Docosahexaenoico	22:6 ω6	0,7
Ácido Nervónico	24:1 ω9	0,1
Resumen (%)		
Saturados		31,9
Monoinsaturados		43,6
Poliinsaturados		22,2
Total de ácidos grasos identificables		97,7
Total de ácidos grasos no identificables		1,3

OMEGA 3 TOTAL	11,6
EPA	0,1
DHA	0,7
20:1 W9	0,5
22:1 W9 W11	0,1
EPA + DHA	0,8
OMEG A 9 TOTAL	36,1
OMEG A 6 TOTAL	10,2

**Leyenda:**

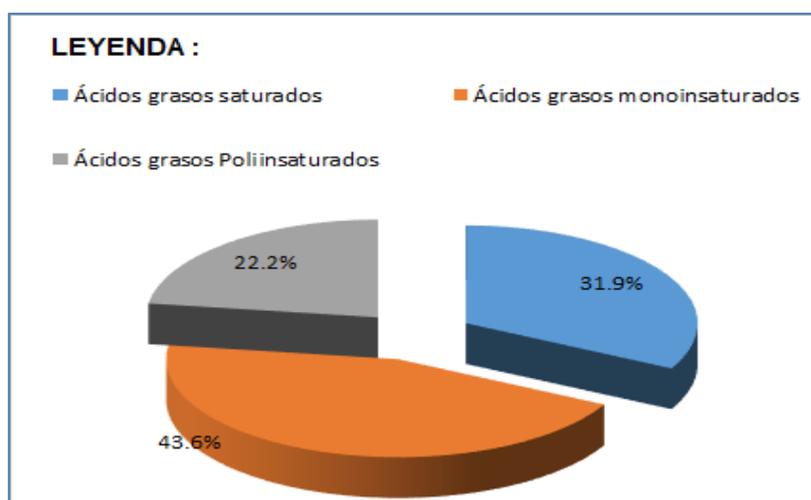
C<sub>n</sub>= Número de carbono.

n = Número de enlaces.

ω = Omega.

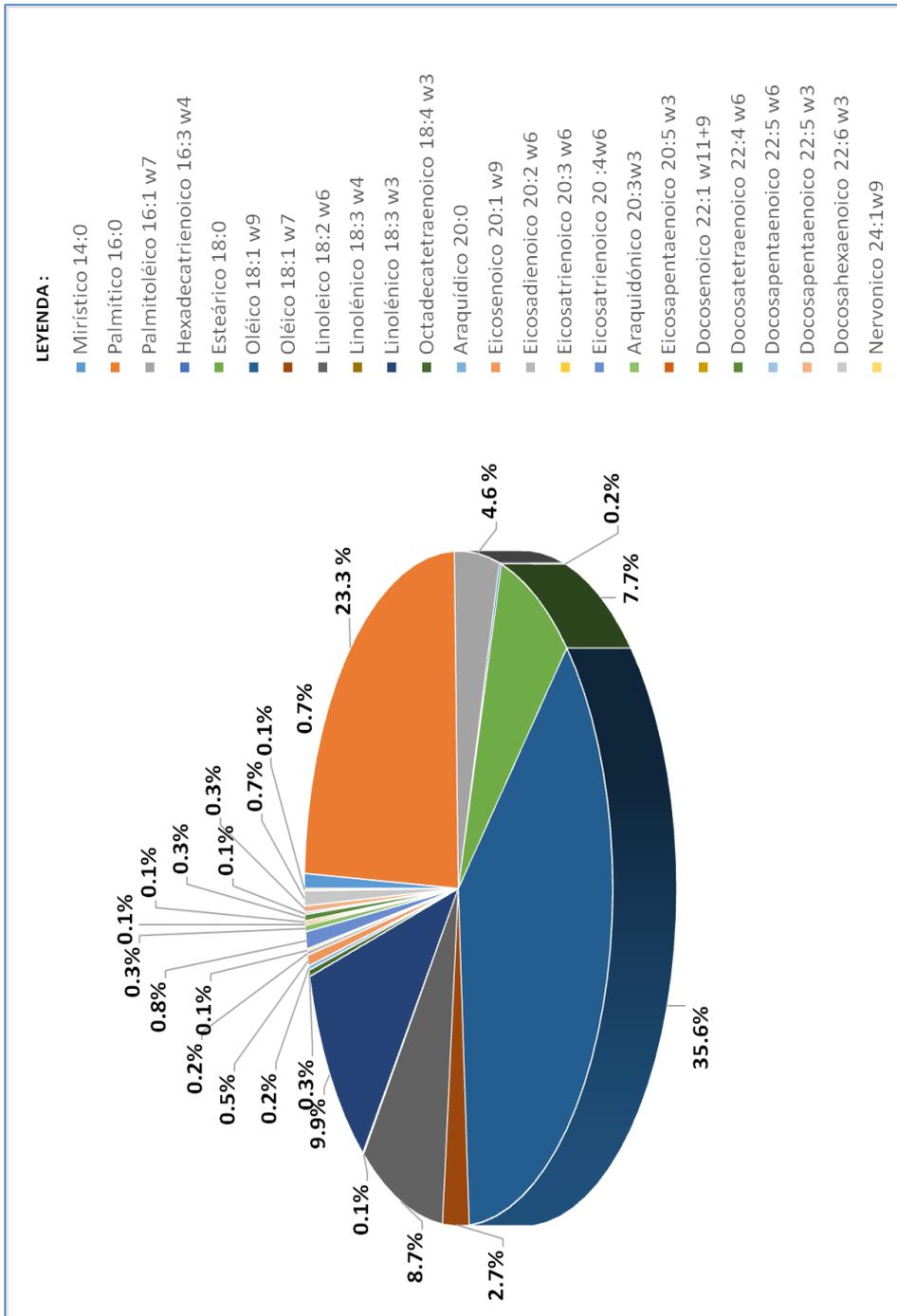
ωx= Indica las posiciones en las hay dobles enlaces.

En la Tabla 5 se observa los tipos de ácidos grasos obtenidos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona", a través del análisis por cromatografía de gases; expresado en porcentaje. Se identificó un total de 97,7% ácidos grasos, de los cuales el 31,9% son ácidos grasos saturados; 43,6% monoinsaturados y 22,2% poliinsaturados. En la tabla se resaltan los ácidos grasos de mayor porcentaje relativo.

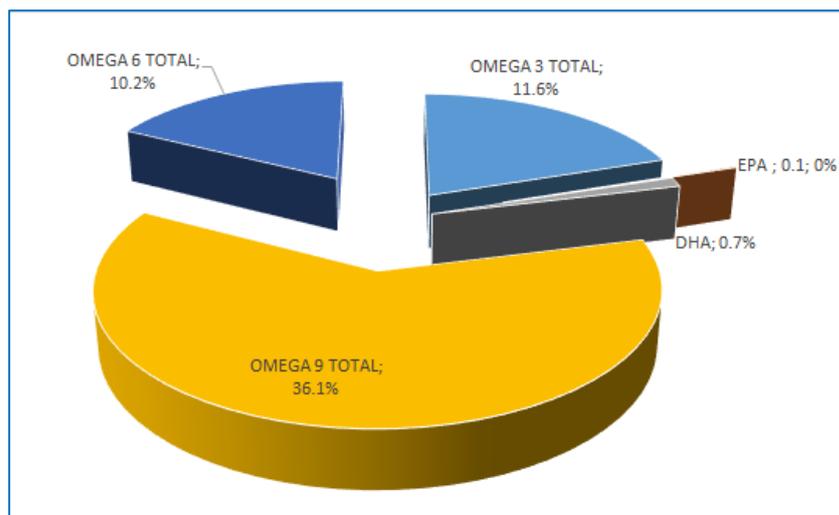


**Figura 8.** Resumen de los ácidos grasos obtenidos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona".

En la figura 8 se observa que del 97,7% de los ácidos grasos obtenidos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona", el 43,6 % corresponden a los ácidos grasos monoinsaturados.



**Figura 9.** Ácidos grasos presentes en la grasa de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”. En la figura 8 se observa que del 97,7 % de los ácidos grasos obtenidos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” el 35,6 % corresponden al ácido oleico.



**Figura 10.** Porcentaje de Omegas obtenidas de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.

En la figura 10 se observa que de los ácidos grasos obtenidos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” el 11,6% y el 10,2% son ácidos grasos tipo omega 3 y 6 respectivamente.

c. **Estudio farmacológico de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

**Tabla 6.** Tabla de ANOVA, Análisis de varianza para el efecto antiinflamatorio (ANOVA DE UN FACTOR).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20,414	5	4,083	2,651	,036
Intra-grupos	64,681	42	1,540		
Total	85,095	47			

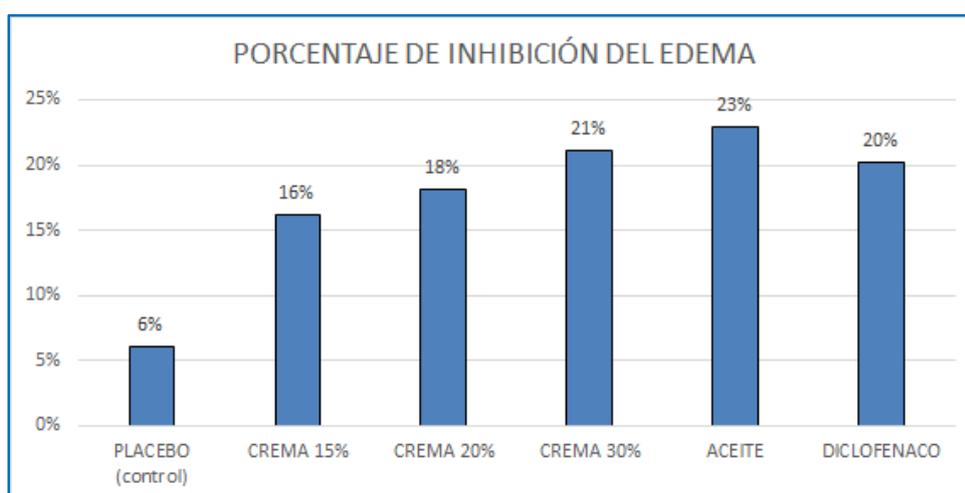
En la tabla 6 se observa el análisis de varianza que compara los promedios obtenidos en diversos tratamientos para efecto antiinflamatorio, evidenciando diferencias significativa entre las medias ( $p=0,036 < 0,05$ ); es

decir al menos hay un promedio diferente. Por lo tanto en los diferentes tratamientos hay al menos uno con efecto antiinflamatorio.

**Tabla 7.** Análisis descriptivos del efecto antiinflamatorio.

Tratamiento	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Placebo (control=	0,650	0,812	-0,029	1,329
Crema 15%	1,850	1,120	0,914	2,786
Crema 20%	2,088	1,109	1,160	3,015
Crema 30%	2,275	1,719	0,838	3,712
Grasa animal	2,788	1,144	1,831	3,744
Diclofenaco	2,113	1,354	0,981	3,244
Total	1,960	1,346	1,570	2,351

En la tabla 7 se observa el análisis descriptivo de los datos obtenidos en el ensayo para la determinación del efecto antiinflamatorio en ratones, con cremas elaboradas a diferentes concentraciones; a base de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” aplicados vía tópica en el pabellón auricular del ratón.



**Figura 11.** Porcentaje de inhibición del edema de la inflamación.

En la figura 11 se observa los porcentajes de inhibición del edema de la inflamación (efecto antiinflamatorio) para los distintos grupos. La grasa fundida de la *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona" alcanzó un 23% de inhibición de la inflamación, seguido de la crema elaborada al 30% de concentración con 21%. La crema elaborada al 20% de concentración y el diclofenaco 1% crema presentan 18 y 20% respectivamente. Por lo tanto se puede deducir que el mayor efecto antiinflamatorio resulta del tratamiento directo con la grasa fundida de la *Boa constrictor constrictor*.

## V. DISCUSIÓN.

En el resultado del estudio fisicoquímico de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” se obtuvo 0,4315 % de humedad (tabla 2); a diferencia de lo reportado en el estudio de la grasa de la iguana verde realizado por Bell<sup>8</sup>, con un valor de 0,4711%. La humedad como dato importante en la evaluación de control de calidad de las grasas y aceites puede conducir a procesos de enranciamiento y posteriormente a su descomposición si se encuentra en porcentajes mayores, por lo tanto, la humedad puede influir directamente en los resultados del estudio fisicoquímico y caracterización de la grasa en estudio, por consiguiente su efecto antiinflamatorio declarado.

Para el ensayo de peso específico e índice de saponificación se obtuvieron valores de 0,9136 g/mL y 197,34% respectivamente (tabla 2), a diferencia de lo reportado en el estudio de la grasa de la iguana realizado por Bell<sup>8</sup>, con valores de 0,9147g/mL y 195,12% respectivamente. En el estudio de la *Boa constrictor* (Nigeria) realizado por Falodun<sup>6</sup>, los valores de peso específico fueron de 0,81% y 312,69 mg KOH/g para el índice de saponificación.

El % de índice de yodo determinado en la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” reportó un valor de 65,61% (tabla 2), cuyo valor fue mayor a lo reportado en el estudio de la grasa de la iguana realizado por Bell<sup>8</sup> con un valor de 61,73 %; pero menor a lo reportado en el estudio de *Boa constrictor* realizado Falodun<sup>6</sup> con un valor de 133g de yodo/100g. Estas diferencias en los valores descritos están relacionadas directamente con el número de insaturaciones presentes en la cadena de ácidos grasos de cada muestra; por lo tanto, la presencia de mayor o menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados depende de la característica propia de la grasa del animal en estudio.

El porcentaje de ácidos grasos libres en la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”, fue de 1,11% (tabla 2), a diferencia de los reportado en el estudio de Falodun<sup>6</sup> con un valor de 310,73 mg KOH/g. El valor obtenido influye directamente en los resultados del análisis descriptivo. Asimismo se puede inferir que el bajo porcentaje de ácidos grasos libres en nuestra muestra indica que ha sufrido ligeramente el proceso de enranciamiento, como resultado de la hidrólisis u oxidación que afecta los enlaces dobles de los ácidos grasos polinsaturados formando peróxidos. Caso contrario cuando una grasa posee valores altos de índice de acidez apunta a una muestra de baja calidad debido a un inadecuado almacenamiento, por lo que no se recomienda su consumo.

En el índice de peróxido se obtuvo un valor de 5,63 meq/kg, y que según la norma CODEX para grasas y aceites<sup>65</sup> establece un valor hasta 10 miliequivalentes de oxígeno activo/kg de aceite. La determinación del índice de peróxido está asociada a procesos oxidativos de las grasas y aceites, donde el resultante más frecuente que se presenta en el deterioro de la grasa es la rancidez. Por lo general el primer producto formado por la oxidación de un aceite o grasa es un hidroperóxido. En la grasa de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” el número de peróxidos obtenidos permite caracterizar la frescura de la muestra durante su análisis, ya que un valor alto indicaría que el proceso de enranciamiento ha comenzado, determinando el estado de oxidación de la grasa e indicando el deterioro de posibles componentes de interés nutricional o terapéutico.

En el perfil de ácidos grasos, según se muestra en la tabla 5, se identificaron los ácidos grasos de mayor porcentaje, resultando un 31,9% para ácidos grasos saturados, 43,6% para ácidos grasos monoinsaturados y 22,2% para ácidos grasos poliinsaturados. A diferencia de lo reportado en el estudio de la grasa de iguana realizado por Bell<sup>8</sup>, que presenta un 36,9% de ácidos grasos

saturados 15,8% de ácidos grasos poliinsaturados y 45,6% para ácidos grasos monoinsaturados. Asimismo, en el estudio del aceite de la cobra realizado por Buranapraditkun<sup>7</sup> reporta un 30,34% de ácidos grasos saturados, 34,19% monoinsaturados y 25,96% poliinsaturados. Se aprecia un 6,4% de ácidos grasos poliinsaturados más que lo obtenido en la grasa de la iguana<sup>8</sup> y un 3,76% menos de la grasa de la Cobra<sup>7</sup>. Además, según Schemeda<sup>9</sup> reporta 52,11% de ácido oleico como compuesto principal, Bell<sup>8</sup> 34,9% de ácido oleico, Buranapraditkun<sup>7</sup> 19,16% de ácido linoleico y la grasa en el presente estudio tiene como componente principal el ácido oleico con 35,6%, 11,6% de ácido graso omega 3 y 10,2 % de ácido graso omega 6. Por lo tanto, en función a su composición rica en ácidos grasos insaturados y poliinsaturados podemos afirmar que el uso tradicional de la grasa de *Boa constrictor constrictor* posiblemente se deba a estos componentes, otorgándole un gran potencial benéfico para la salud de sus consumidores.

En el estudio farmacológico, mediante el método del edema inducido por Xilol Q.P en el pabellón auricular del ratón y los resultados obtenidos estadísticamente (significancia  $p < 0,05$ ), demuestra que la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” tal cual y las cremas elaboradas a base de la misma grasa en un 30 y 20 % de concentración, presenta efecto antiinflamatorio (tabla 6, Anova de un factor). Asimismo se puede asumir que a medida que incrementa la concentración de las cremas se obtiene un mayor porcentaje de efecto antiinflamatorio, logrando obtener la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” tal cual un valor superior comparado con las cremas elaboradas a base de la misma grasa en un 20 y 30% de concentración; superando incluso al fármaco de referencia: diclofenaco 1% crema.

Se demostró el efecto farmacológico de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” frente a la inflamación tópica experimental. Asimismo, en los estudios realizados por Falodum<sup>6</sup> y Schmeda<sup>9</sup> se

demonstró actividad antiinflamatoria; y para otras especies según Bell<sup>8</sup>. Estos estudios están relacionados en que los ácidos grasos de origen animal tienen actividad antiinflamatoria, apoyando su utilización en el tratamiento de la inflamación de la piel<sup>66</sup>, tal es así que según el estudio de Israel<sup>67</sup> evaluaron la actividad antiinflamatoria tópica del aceite puro de lagarto a concentraciones diferentes; donde sólo el aceite puro mostró efecto antiinflamatorio para luego ser utilizado en procesos de inflamación subaguda.

En base al resultado estadístico del efecto antiinflamatorio y de lo obtenido en el perfil de ácidos grasos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”, se podría afirmar que el efecto antiinflamatorio se debe a la presencia de los ácidos grasos poliinsaturados identificados en la muestra (tabla 4); coincidiendo con lo reportado en los estudios de Falodum<sup>6</sup>, Bell<sup>8</sup>, Schmeda<sup>9</sup> e Israel<sup>67</sup>. Debido a que las principales moléculas proinflamatorias se generan a partir de los ácidos grasos poliinsaturados omega 6 y omega 3, del  $\omega$ -6 se forman las principales moléculas proinflamatorias como el AA(ácido araquidónico), y del  $\omega$ -3 como eicosapentaenoico (EPA). Actualmente se sabe que el AA actúa como precursor de la serie 2 de prostaglandinas y tromboxanos y de la serie 4 de leucotrienos (LTB<sub>4</sub>), metabolitos de marcada acción proinflamatoria, mientras los eicosanoides derivados del EPA tienen una menor capacidad inflamatoria (prostaglandinas y tromboxanos de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5 (LTB<sub>5</sub>)). Existe una competencia enzimática entre ambos para la formación de eicosanoides, por ello una diferente composición en las membranas celulares, de ambos ácidos grasos, dará como resultado cambios con relación a los posibles efectos indeseados<sup>43</sup>. Diversos estudios realizados parecen confirmar que la relación óptima  $\omega$ -6:  $\omega$ -3 debería oscilar entre 5:1 y 10:1 para maximizar los beneficios de estas grasas<sup>43,51</sup>. Por lo tanto, es probable que los ácidos grasos presentes en la grasa *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” afecten la ruta del AA y sus metabolitos,

reduciendo así la producción de potentes mediadores proinflamatorios.

## VI. CONCLUSIONES

La grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” y bajo la forma farmacéutica de crema, a concentraciones de 20 y 30 %, presentan un mayor porcentaje de efecto antiinflamatorio significativo.

La caracterización de la grasa de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”, a través del análisis por espectrofotómetro de Infrarrojo, espectrofotómetro UV-visible y por cromatografía de gases; logró evidenciar la presencia de grupos funcionales presente en la muestra de la grasa tal cual, así como la detección en función de tiempo de retención de los ácidos grasos presentes en la muestra de grasa.

A través del perfil de ácidos grasos, obtenido mediante el análisis por cromatografía de gases, se determinó que el mayor porcentaje de ácidos grasos presentes en la grasa de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”; corresponde a los ácidos grasos monoinsaturados (43,6%). Además se determinó la presencia de ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y omega 6), posibles responsables del efecto antiinflamatorio evaluado.

El estudio fisicoquímico de la grasa *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”, no evidenció ningún tipo de descomposición y/o degradación del mismo.

## VII. RECOMENDACIONES

1. En vista de la gran importancia que hoy en día tiene los animales silvestres, se ve necesario promover la conservación y reproducción de la especie en extinción, así como establecer medidas políticas de gestión y sostenibilidad en relación con las especies amenazadas y buscar otras alternativas de regulación para la utilización de la especie como beneficio terapéutico.
2. Realizar estudios de investigación de la especie *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” para otras actividades terapéuticas como la actividad antibacteriana, ya que actualmente es utilizado en la medicina tradicional por su efecto antiinflamatorio.
3. Realizar más estudios fisicoquímicos de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra, principalmente para el índice de acidez, ya que valores altos en éste parámetro de calidad pueden ser potencialmente peligroso para la salud tras su aplicar directamente sobre la piel; provocando un cuadro alérgico o irritación dérmica.
4. Realizar estudios farmacológico, fisicoquímico y analítico de la misma especie con zona de hábitat diferente y otras especies distintas que son comercializadas en el emporio comercial de Gamarra.
5. Realizar investigaciones para mejorar la formulación de la crema hechas a base de grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” y que durante su aplicación garantice la total absorción y la potenciación del efecto antiinflamatorio. Así mismo realizar un estudio sobre la estabilidad de la grasa y las cremas formuladas, así como la selección de excipientes no irritantes para la piel y entre otros criterios a considerar para que garantice su efecto antiinflamatorio.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. García U. Enciclopedia temática del Perú: salud.2da ed. Lima: El comercio; 2006.p.28.
2. Lehr E. Amphibien und Reptilien in Peru.1ra ed.Germany: NTV Natur und Tier-Verlag Wissenschaft; 2002.
3. Carrillo N. Lista taxonómica preliminar de los reptiles del Perú. Museo de Historia Natural.1ra edPerú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1995.
4. Fernández J. Salud e interculturalidad en América latina: antropología de la salud y crítica intercultural. 1ra ed. Ecuador: Abya Yala; 2006. Disponible en: [http://books.google.com.pe/books/about/Salud\\_e\\_interculturalidad\\_en\\_Am%C3%A9rica\\_La.html?id=lv6cMSjBXAkC](http://books.google.com.pe/books/about/Salud_e_interculturalidad_en_Am%C3%A9rica_La.html?id=lv6cMSjBXAkC).
5. Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos – Digemid. Boletín de centro de atención farmacéutica [Internet]. 2010. [citado el 22 de marzo de 2015]; 4: 1-2.Disponible en: [http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/UpLoaded/PDF/Boletines/AtencionFarmaceutica/B09\\_2010\\_04.pdf](http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/UpLoaded/PDF/Boletines/AtencionFarmaceutica/B09_2010_04.pdf).
6. Falodun A, Owolabi O, *et al*.Physicochemical, antimicrobial and anti-inflammatory evaluation of fixed oil from Boa constrictor. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research [Internet]. 2008. [citado el 26 de abril de 2015]; 65(4):477-480. Disponible en: [http://ptf.contentmanager.pl/pub/Filewydaw/nictwa/acta\\_pol\\_2008/4\\_2008/477-480.pdf](http://ptf.contentmanager.pl/pub/Filewydaw/nictwa/acta_pol_2008/4_2008/477-480.pdf).
7. Khunsap S, Buranapraditkun S, *et al*. Perfil de ácidos grasos de aceite de Cobra y su actividad en células de melanoma de la piel. Universidad de Chulalongkorn.[internet ].2015 [citado el 30 de setiembre del 2015] . Disponible en : [http://annualconference.ku.ac.th/cd53/06\\_018\\_P66.pdf](http://annualconference.ku.ac.th/cd53/06_018_P66.pdf)
8. Bell C. Estudio Químico analítico de la grasa de iguana verde - Efecto cicatrizante y antiinflamatorio sobres lesiones inducidas en ratas. Tesis

para optar el grado académico de Doctor en farmacia y bioquímica. UNMSM. Lima .2007.

9. Schmeda H, Delporte C, *et al.* Actividad antiinflamatoria de aceites de animales de las amazonas peruano. *Journal of Ethnopharmacology* [internet]. 2014 [citado el 28 de octubre del 2014]; 156(1):9-15. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874114006047>.
10. Organización Mundial de la Salud. Medicina tradicional: definiciones. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2015. Disponible en: [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)
11. Salaverry G, Delgado M. Historia de la medicina peruana en el siglo XX. Vol 2. Perú: Universidad Mayor de San Marcos Fondo Editorial.
12. Rivero J. Los anfibios y reptiles de Puerto Rico. 2da ed. Puerto Rico: Editorial de la Universidad de Puerto Rico. 1998.
13. Arredondo B. Dualidad simbólica de plantas y animales en la práctica médica del curandero-paciente en Huancayo. Tesis para optar el grado de Magister en Antropología. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.2006.
14. Naranjo P, Crespo B. Etnomedicina: Progresos ítalo-latinoamericanos. Vol 2. Ecuador: Abya Yala; 1997.
15. Schmidt Dieter. Boas, pitones y anacondas sanas y felices. 1ra ed. España: Hispano-Americana; 2007.
16. SNIB-CONABIO: Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad [internet]. México D.F: SNIB-CONABIO; 1993-2015 [citado el 7 de febrero del 2015]. Disponible en : <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Boacontractor00.pdf>

17. Flores E, Vásquez R, Magán. Ofidios. En: Guzmán R. El secreto de los reptiles. 1ra ed. Perú: Fondo editorial Universidad Ricardo Palma; 2010.p.88-90.
18. Yarlequé A. Principales serpientes no venenosas del Perú. En: Yarlequé A .Las serpientes peruanas y sus venenos. 1ra ed. Perú: Fondo editorial Universidad Mayor de San Marcos; 2000. p.35.
19. The reptile-database [Internet]. United States of America: Peter Uetz;1995-2016 [citado el 20 de enero del 2016 ] .Disponible en : [http://reptiledatabase.reptarium.cz/species?genus=Boa&species=constrictor&search\\_param=%28%28taxon%3D%27Boidae%27%29%29](http://reptiledatabase.reptarium.cz/species?genus=Boa&species=constrictor&search_param=%28%28taxon%3D%27Boidae%27%29%29)
20. Václar L. Anfibios y reptiles. 1ra ed. España: Susaeta; 1985. p.198.
21. Grupo Océano. Anfibios y reptiles. Barcelona-España: Fondo Editorial Grupo Océano; 1999.
22. Gerholdt J. Boa constrictors. 1ra ed. United States: Editorial ABDO& Daughter; 1995.
23. Gunstone F.D 2000. Composition and Properties of edible oils. Chapter 1. In Hamm W. and Hamilton R. (Ed). Edible oils Processing. Sheffield Academic Press. p.2-29.
24. Rengifo P. Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. Tesis Doctoral U.N.M.S.M. Lima, Perú. 2009.
25. Chasquibol N, Guinda A, *et al.* Estudios preliminares sobre la caracterización de aceites de semillas de sachá inchi (*Plukenetia Huayllabambana*), cultivadas en la provincia de Rodríguez de Mendoza, departamento de Amazonas-Perú. Instituto de Investigación Científica, Universidad de Lima. Lima, Perú. 2014.

26. Mehlenbacher, V.C. Análisis de grasa y aceites. Ed. Científico Médico Barcelona. España. "Técnicas de Laboratorio para el análisis de los alimentos. Urmo, Bilba, España. 1979.
27. Ledea O, Martinez E, *et al.* Aplicación de Métodos Cromatograficos en el estudio de la Composición Química del Aceite de Girasol Ozonizado "OLEOZON®. Revista CENIC Ciencias Químicas,36,1, 2005.
28. Quirantes R, Domínguez J, *et al.* Técnica de análisis de aceite de oliva. Andalucía, España. 2015 [citada 28 de abril del 2015]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Alberto\\_Fernandez-Gutierrez/publication/268175164\\_Tecnicas\\_de\\_analisis\\_del\\_aceite\\_de\\_oliva/links/54ff34600cf2eaf210b79898.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Alberto_Fernandez-Gutierrez/publication/268175164_Tecnicas_de_analisis_del_aceite_de_oliva/links/54ff34600cf2eaf210b79898.pdf).
29. Farmacopea de Estados Unidos USP 38-NF 33. Capítulos generales <401> Grasas y aceites fijos, Volumen 1. 2015.
30. Métodos Oficiales de Análisis en Industria de Aceites y grasas. Panreac Química. Centro Telematic editorial. Comunidad Europea. España.
31. Yaulema D. Regeneración de aceites comestibles. Tesis para optar el título profesional de ingeniero Químico. Universidad de Guayaquil, Ecuador. 2014.
32. Soto M. Control de calidad de aceites vegetales. universidad nacional de Trujillo, facultad de farmacia y bioquímica. Lima, Perú 2011.
33. Grosser T, Smyth E, FitzGerald G. Analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos. En: Hardman G, Limbird L. Goodman & Gilman - Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol 1.10ma ed. Estados Unidos: Mc Graw Hill; 2010. p.698-700.
34. Castañeda B. Antiinflamatorios no esteroideos .Perú: Fondo editorial Universidad San Martin de Porres; 2008.

35. Correl A, Madroño A, Arnaiz A. Daño tisular e Inflamación. En Inmunología. 1ra ed. España: Complutense; 1995.p.167.Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?id=UhN9f8wilKIC&pg=PA171&dq=quimiotaxis&hl=en&sa=X&ei=I1u5UMbINrs0QGov4HgCg&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=quimiotaxis&f=fals>.
36. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J.Inflamación aguda y crónica. En: Robbins & Cotran. Patología estructural y funcional. 8ta ed. España: Elsevier; 2010. Disponible en : <https://books.google.com.pe/books?id=kGS1OMWqVZwC&printsec=frontcover&dq=patologia+estructural+y+funcional&hl=en&sa=X&ei=E15UJITyODRAaWVgIAF&sqi=2#v=onepage&q&f=false>
37. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R. Inflamación aguda y crónica. En: Robbins .Patología Humana.8ta ed. España: Elsevier; 2008. p.33-56.
38. Voet, D. Lípidos y membranas. En: Voet, D .Bioquímica .3ra ed. Argentina: Editorial médica Panamericana; 2006.p.397. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=r5bedH\\_aST0C&printsec=frontcover&dq=bioquimica&hl=es&sa=X&sqi=2&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bioquimica&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=r5bedH_aST0C&printsec=frontcover&dq=bioquimica&hl=es&sa=X&sqi=2&redir_esc=y#v=onepage&q=bioquimica&f=false).
39. Badui, S. Lípidos. En: Química de los alimentos.4ta ed. México: Pearson Educación; 2006.p.246-252.
40. Mathews C, Van Holde K, Ahern K. Lípidos, membranas y transporte celular. En: Mathews C & *et al* .Bioquímica. 3ra ed. Madrid: Pearson Educación; 2002.p. 353-355.
41. Villavicencio M. Bioquímica: Lípidos.Vol.1.Editorial: Fondo editorial Universidad Mayor de San Marcos; 1996.
42. Mataix, J. Lípidos alimentarios. En: Libro blanco de los omega-3. 1ra ed. España: Editorial médica panamericana; 2004. p:15.

43. Sancho, P. Aspectos terapéuticos de los ácidos grasos poliinsaturados. Aplicaciones en dermatología. AVEPA [internet]. 2001[citado el 28 de abril del 2015]; 21 (1):18-26. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v21n1/11307064v21n1p18.pdf>
44. Fernández I. Ácidos grasos esenciales y sistema inmune. Revista FACIBIB [internet]. 2004. [citado el 25 de abril del 2017]; 8: 269-281. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FABICIB/article/view/756>
45. López A, Macayab C. Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. Rev. Esp Cardiol Supl [internet]. 2006 [citado el 04 de marzo del 2016]; 6(1):31-37. Disponible en: <http://www.revespcardiol.org/es/content/articulo/90267578/>
46. Rodríguez M, Tovar A, Del Padro M, Torres N. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. Revista de Investigación Clínica [internet]. 2005 [citado el 07 de marzo del 2016]; 57 (3): 457-472. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-83762005000300010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762005000300010)
47. Pinazo M, Boscá L. Propiedades antiinflamatorias de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Indicaciones en oftalmología. Arch Soc. Esp. Oftalmol [internet]. 2012 [citado el 07 de mayo del 2016]; 87 (7): 203-205. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/aseo/v87n7/editorial.pdf>
48. Rang H, Dale M. Ritter J, Flower R. Hormonas locales, inflamación y reacciones inmunitarias. En : Rang H, *et al.* Farmacología. 6ta ed. España: Elsevier. 2008.p:215-218

49. Smyth E, FitzGerald G. Eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y compuestos similares. En: Katzung B. Farmacología básica y clínica .12 va ed. México D. F: Mc Graw Hill.2012. p. 313-316.
50. Grosser T, Smyth E, FitzGerald G. Autacoides derivados de los lípidos: eicosanoides y factor activador de plaquetas. En: Hardman G, Limbird L. Goodman & Gilman - Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.12 va ed. Estados Unidos: Mc Graw Hill; 2012. p.937-942
51. James M,Gibson R,Cleland L .Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. The American Journal of Clinical Nutrition [internet].2000[citado el 17 de agosto del 2017]; 71(suppl):343S-348S.Disponible en : <http://ajcn.nutrition.org/content/71/1/343s.full>
52. Rang H, Dale M. Ritter J, Flower R. Antiinflamatorios e inmunodepresores. En : Rang H, et al.Farmacología.6ta ed. España: Elsevier.2008.p:226-233
53. Leza J, Lizasoain I. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos y otros analgésicos-antipiréticos .En: Velásquez L. Farmacología básica y clínica. 18va ed. Madrid: Medica panamericana;2008.p.513-514
54. Neal M. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES). En: Farmacología médica en esquemas. 5ta ed. Londres: Servicios bibliográficos S.A; 2007. p:70.
55. Campos A, Rodríguez A. Analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos y antigotosos. En: Patiño, N. Farmacología Médica. 1ra ed. México: Médica panamericana; 2008. p.:290-297. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=EUBNE4Y0v9sC&printsec=frontcover&dq=Pati%C3%B1o,+N.+Farmacolog%C3%ADa+M%C3%A9dica&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiyudT3h4fWAhVDNiYKHfbhB5oQ6AEIJD>

[AA#v=onepage&q=Pati%C3%B1o%2C%20N.%20Farmacolog%C3%A9dica&f=false](#)

56. ISO 662 2nd. Ed. 1998. Animal and vegetable fats and oils. Determination of moisture and volatile matter content.
57. AOCS Official Method Ce 1b-89. Fatty acid Composition by GCL. Edition 1997.
58. Pariona N. Obtención de los ácidos grasos del aceite de la *Plukenetia volubilis* L. "Sacha Inchi" para la utilización en la industria y estudio fitoquímico cualitativo de la almendra. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Lima, Perú. 2008
59. Basic Gas Chromatography – Harold Mc Nair Pág: 134-135.
60. Salas E, Cuellar A, *et. al.* Comparación entre la composición química y las propiedades antiinflamatorias del sebo de carnero de origen Cubano y del Sahara. Revista Colombiana ciencias. Animales [Intenet]. [Citada el 19 de marzo del 2015]; 5(1):93-103,2013. Disponible en : file:///C:/Documents%20and%20Settings/Atequipa/Mis%20documentos/Downloads/DialnetComparacionEntreLaComposicionQuimicaYLasPropiedades-4692807.pdf.
61. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de técnicas de investigación. 2002.
62. Zeng Y. Identificación y actividad farmacológica de principios de especies antiinflamatorias. Tesis doctoral Universidad de Valencia. España. 2007.
63. Villena C, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de

- Oenothera rosea (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. Ciencia e investigación - Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM. 2012; 15(1):15-9.
64. Vargas C. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de Senna reticulata (Wiild) H.Irwing & Barneby ("Retama"). Tesis doctoral UNMSM. Lima - Perú. 2007.
65. Norma del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales Codex Stan 19-1981; Rev. 2-1999.
66. Calder P. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochemical Society Transactions*, vol. 33, no. 2, pp. 423–427, 2005.
67. Israel J, Gerlânia O, *et. al.* Topical Anti-Inflammatory Activity of Oil from *Tropidurus hispidus* *Research Article* (Spix, 1825). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 140247, 7 pag. 2015.
- .

## IX. ANEXOS.

### ANEXO 1: Información taxonómica de la *Boa constrictor constrictor* "Boa Mantona".

#### CERTIFICADO DE IDENTIFICACION HERPETOLÓGICA

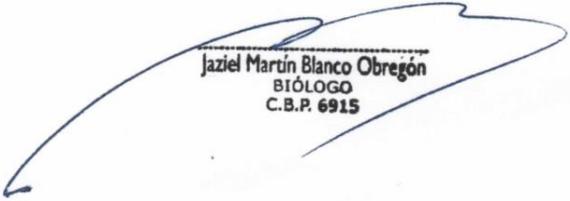
El que suscribe, JAZIEL MARTIN BLANCO OBREGON, biólogo, Identificado con DNI 40031045, con numero de colegiatura en el Colegio de Biólogos del Perú 6915, con registro N° 30 en la Dirección General de Forestal y de Fauna Silvestre del Ministerio de Agricultura, certifica que:

A solicitud del Médico Veterinario Walter Hugo Silva Suarez, con CMVP 4624, y luego de haber realizado la inspección correspondiente en: "Zoocriadero Oswaldo Meneses" con Dirección en Av. Defensores del Morro 2268, Distrito de Chorrillos, Provincia de Lima, Departamento de Lima; y en presencia de las Srtas.: Jessica Atequipa Quispe y Elisabeth Cabrera Pachacama, se deja constancia que se ha procedido a identificar:

Cantidad	Nombre Común	Nombre Científico
01	Boa mantona	Boa constrictor constrictor

Se expide el presente certificado a solicitud de Walter Hugo Silva Suarez, para los fines que estime conveniente.

Lima, 22 de septiembre de 2014.

  
Jaziel Martín Blanco Obregón  
BIÓLOGO  
C.B.P. 6915

*Blgo. Jaziel Martín Blanco Obregón C.B.P. 6915 Consultor en Biodiversidad. [jazielblanco@gmail.com](mailto:jazielblanco@gmail.com)  
Registro N° 30. Dirección General Forestal y de Fauna Silvestre. Ministerio de Agricultura.  
995050120 - #0066579 - 987 572 153 - 4853055. Mz C.Lt. 4 Urb. El Manantial. Lima 31.*

**ANEXO 2. Protocolo de análisis fisicoquímicos de la grasa de Boa  
Constrictor constrictor "Boa Mantona".**



**PROTOCOLO DE ANALISIS**

<b>PRODUCTO</b>	: Grasa de <i>Boa constrictor constrictor</i> .
<b>CANTIDAD</b>	: 100 g
<b>FECHA DE ANALISIS</b>	: 15 de marzo del 2015
<b>FECHA DE EMISIÓN</b>	: 18 de marzo del 2015
<b>LUGAR DE ANALISIS</b>	: Laboratorio Gencopharmaceutical.

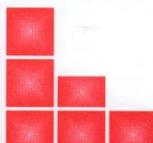
PARÁMETROS FISIQUÍMICOS		
Ensayo	Resultados	Referencia
Descripción	Líquido aceitoso transparente, poco espeso, de color amarillo claro con olor y sabor leves característico.	T. propia
pH (25 °C)	4,7	USP 38
Humedad (%) *	0,4315%	ISO 662 2nd. Ed. 1998.
Peso específico	0,9136 g/mL.	USP 38
Grasas y aceites fijos Ácidos grasos libres	1,11 %	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de peróxido	5,63 meq/kg	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de Yodo(g/100g)	65,61 %	USP 38
Grasas y aceites fijos Índice de Saponificación	197,34%	USP 38

www.gencopharmaceutical.com

Q.F. Milton Arana Rojas.  
Director Técnico  
C.Q.F.P. 6249

Q.F. Isidora Galindo Yupa.  
Jefe de Control de Calidad  
C.Q.F.P. 13544

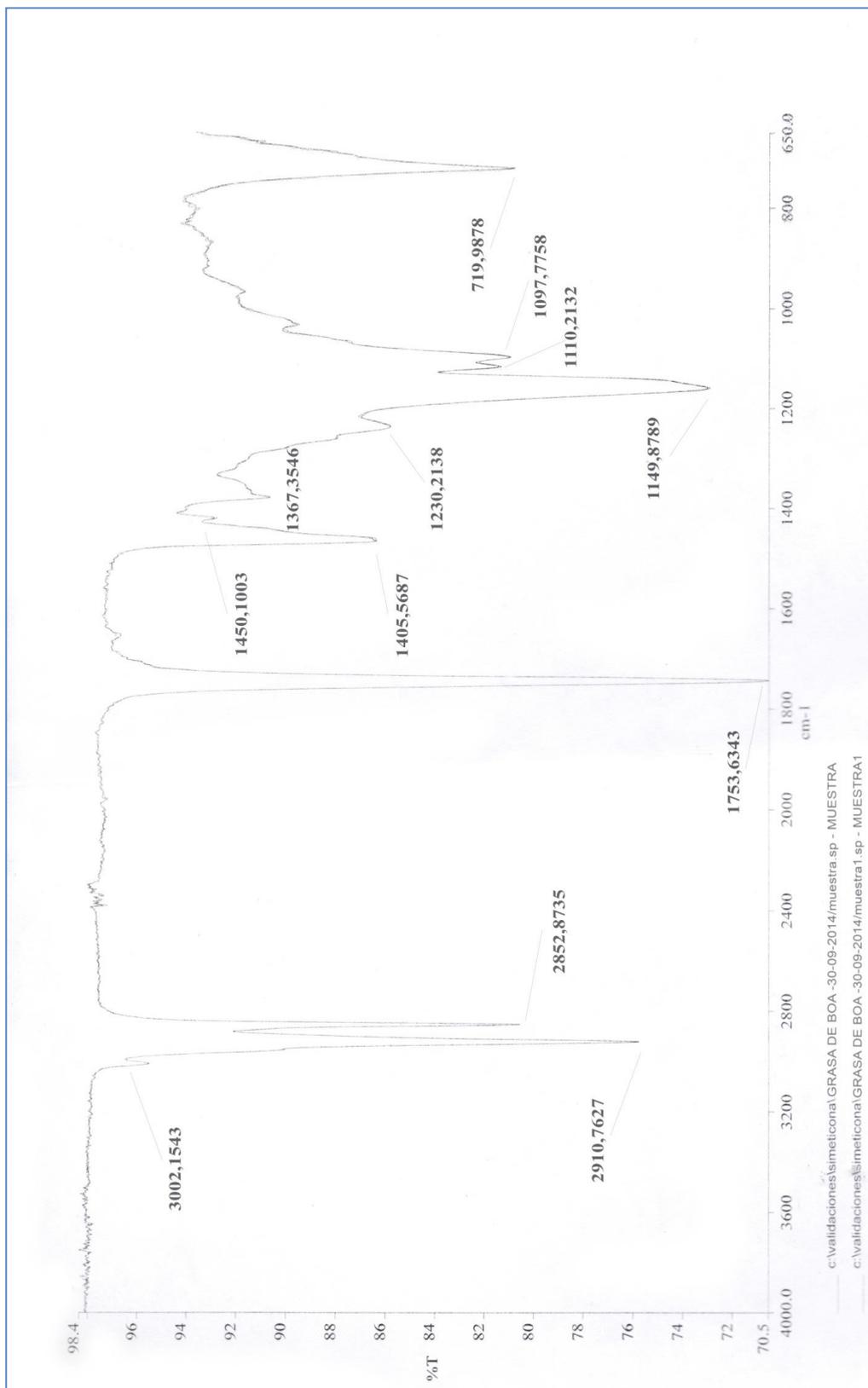
R. Salcedo  
Analista



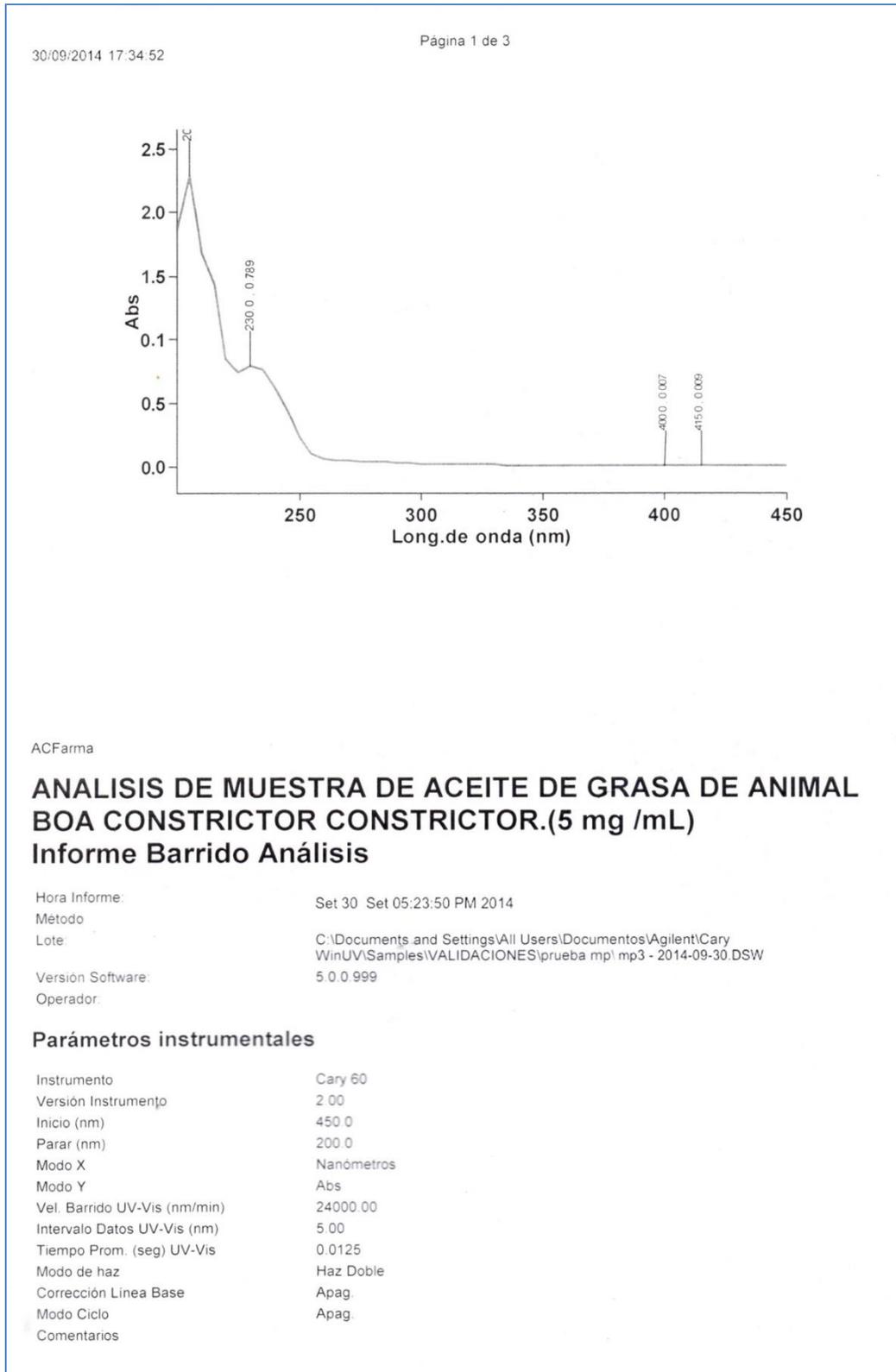
Urb. El Éxito Mz. C Lte. 11 - Ate - Lima 03 - Perú  
laboratorio@gencopharmaceutical.com



**ANEXO 3.** Lectura en el espectrofotómetro IR de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa mantona".



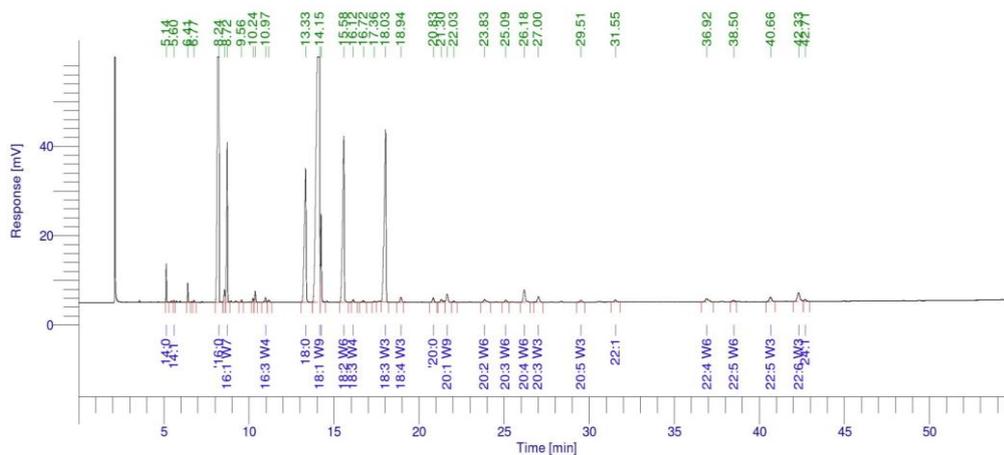
**ANEXO 4. Lectura en UV-visible de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa mantona".**



## ANEXO 5. Reporte del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases

Software Version : 6.3.1.0504	Date : 10/03/2015 01:24:07 p.m.
Sample Name : MM	Data Acquisition Time : 07/03/2015 11:16:20 p.m.
Instrument Name : CLARUS 600	Channel : A
Rack/Vial : 0/0	Operator : manager
Sample Amount : 1.000000	Dilution Factor : 1.000000
Cycle : 3	

Result File : C:\Data anterior\DATA\OMEGAS\IODOM3 2015\IODOM3 MARZO 2015\07-03-2015\mm.rst  
 Sequence File : C:\Data anterior\DATA\OMEGAS\IODOM3 2015\IODOM3 MARZO 2015\07-03-2015\BK-1.seq



### ACIDOS GRASOS

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Area [%]
1	14:0	5.140	21014.18	0.7
2	14:1	5.598	1288.30	0.0
3		6.406	12951.72	0.4
4		6.771	1684.49	0.1
5	'16:0	8.239	697354.32	23.3
6		8.562	11325.34	0.4
7	16:1 w7	8.722	138328.42	4.6
8		9.565	2784.79	0.1
-	16:2 w4	10.040	0.00	0.0
9		10.238	4037.09	0.1
10		10.365	11034.35	0.4
11	16:3 w4	10.972	6573.50	0.2
12		11.169	3090.76	0.1
13	18:0	13.335	229496.11	7.7
14	18:1 w9	14.149	1064612.89	35.6
15	18:1 w7	14.248	81058.44	2.7
16	18:2 w6	15.582	259513.25	8.7
17	18:3 w4	16.122	3715.42	0.1
18		16.724	3184.28	0.1
19		17.362	1649.46	0.1
20	18:3 w3	18.032	294566.62	9.9
21	18:4 w3	18.939	8224.09	0.3
22	'20:0	20.829	7426.95	0.2
23		21.304	7104.31	0.2
24	20:1 w9	21.649	13905.27	0.5
25		22.033	2433.29	0.1
26	20:2 w6	23.833	7218.92	0.2
27	20:3 w6	25.091	4197.92	0.1
28	20:4 w6	26.179	24218.55	0.8
29	20:3 w3	27.002	10353.72	0.3
-	20:4 w3	28.375	0.00	0.0
30	20:5 w3	29.512	3662.65	0.1
-	22:0	30.586	0.00	0.0
31	22:1	31.551	3879.96	0.1

10/03/2015 01:24:07 p.m. Result: C:\Data anterior\DATA\OMEGAS\IODOM3 2015\IODOM3 MARZO  
2015\07-03-2015\mm.rst

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Area [%]
-	21:5 w3	35.256	0.00	0.0
32	22:4 w6	36.915	9527.17	0.3
33	22:5 w6	38.500	2810.39	0.1
34	22:5 w3	40.663	9933.59	0.3
-	24:0	41.653	0.00	0.0
35	22:6 w3	42.326	21561.76	0.7
36	24:1	42.707	4354.38	0.1
			2990076.63	100.0

**ANEXO 6. Resultado estadísticos del estudio farmacológico de la  
grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona”.**

Tabla 8. Análisis de múltiples comparaciones – MDS, para el efecto antiinflamatorio.

(I) Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
<b>Placebo</b>	Crema al 15%	-1,20000	,62049	,060
	Crema al 20%	-1,43750*	,62049	,025
	Crema al 30%	-1,62500*	,62049	,012
	Grasa animal	-2,13750*	,62049	,001
	Diclofenaco	-1,46250*	,62049	,023
<b>Crema al 15%</b>	Placebo	1,20000	,62049	,060
	Crema al 20%	-,23750	,62049	,704
	Crema al 30%	-,42500	,62049	,497
	Grasa animal	-,93750	,62049	,138
	Diclofenaco	-,26250	,62049	,674
<b>Crema al 20%</b>	Placebo	1,43750*	,62049	,025
	Crema al 15%	,23750	,62049	,704
	Crema al 30%	-,18750	,62049	,764
	Grasa animal	-,70000	,62049	,266
	Diclofenaco	-,02500	,62049	,968
<b>Crema al 30%</b>	Placebo	1,62500*	,62049	,012
	Crema al 15%	,42500	,62049	,497
	Crema al 20%	,18750	,62049	,764
	Grasa animal	-,51250	,62049	,413
	Diclofenaco	,16250	,62049	,795
<b>Grasa animal</b>	Placebo	2,13750*	,62049	,001
	Crema al 15%	,93750	,62049	,138
	Crema al 20%	,70000	,62049	,266
	Crema al 30%	,51250	,62049	,413
	Diclofenaco	,67500	,62049	,283
<b>Diclofenaco</b>	Placebo	1,46250*	,62049	,023
	Crema al 15%	,26250	,62049	,674
	Crema al 20%	,02500	,62049	,968
	Crema al 30%	-,16250	,62049	,795
	Grasa animal	-,67500	,62049	,283

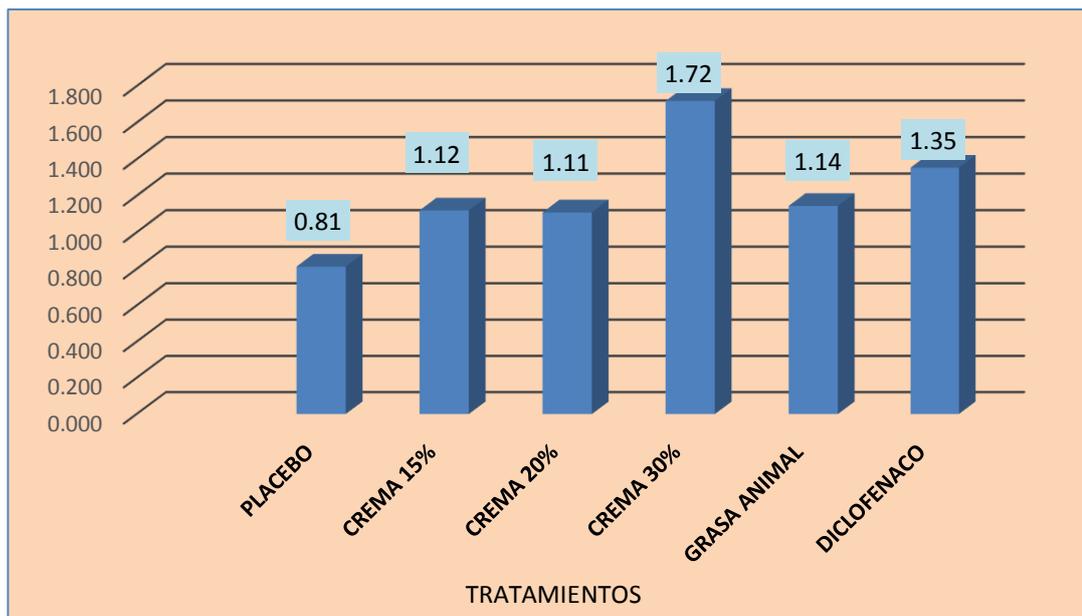
Tabla 9. Prueba de homogeneidad de varianzas para el efecto antiinflamatorio

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,226	5	42	,314

Tabla 10. Comparación de medias por método de Duncan.

Tratamiento		N	Subconjunto para alfa = 0,05	
			1	2
Duncan <sup>a</sup>	Placebo	8	,6500	
	Crema al 15%	8	1,8500	1,8500
	Crema al 20%	8		2,0875
	Diclofenaco	8		2,1125
	Crema al 30%	8		2,2750
	Grasa animal	8		2,7875
	Sig.		,060	,186

Figura 12. Desviación típica del efecto antiinflamatorio para cada uno de los tratamientos.



**ANEXO 7. Procedimiento farmacológico para determinación del efecto antiinflamatorio.**



**Figura 13.** *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” <sup>17</sup>.



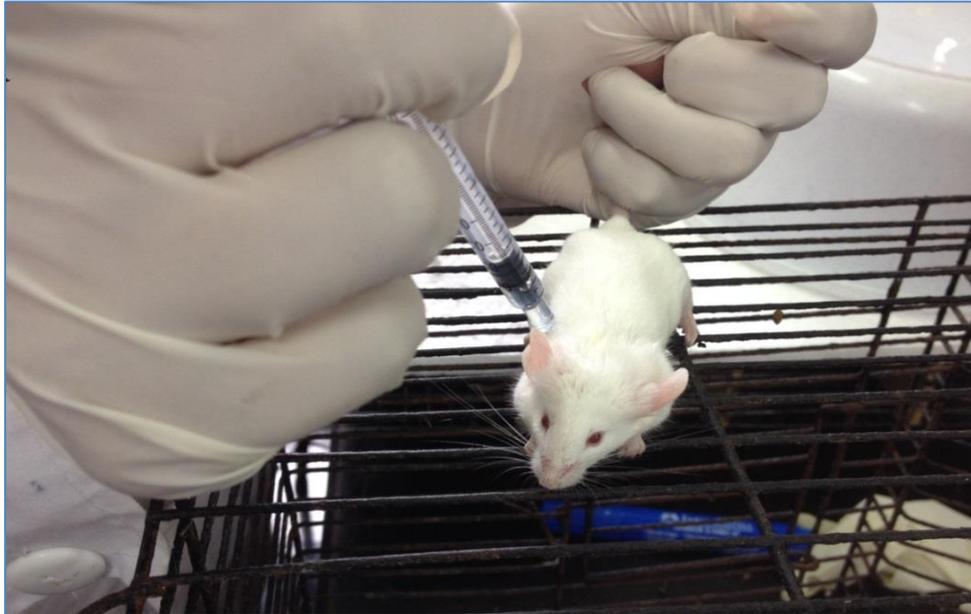
**Figura 14.** Grasa de la *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” sometido a una temperatura de 40°C.



**Figura 15.** Grupos de ratones albinos cepa Balb/C53 distribuidos en grupo.



**Figura 16.** Ratones albinas pesadas en balanza metálica de acero inoxidable.



**Figura 17.** Aplicación tópica del agente irritante (xileno Q.P) en el pabellón auricular derecho del ratón.



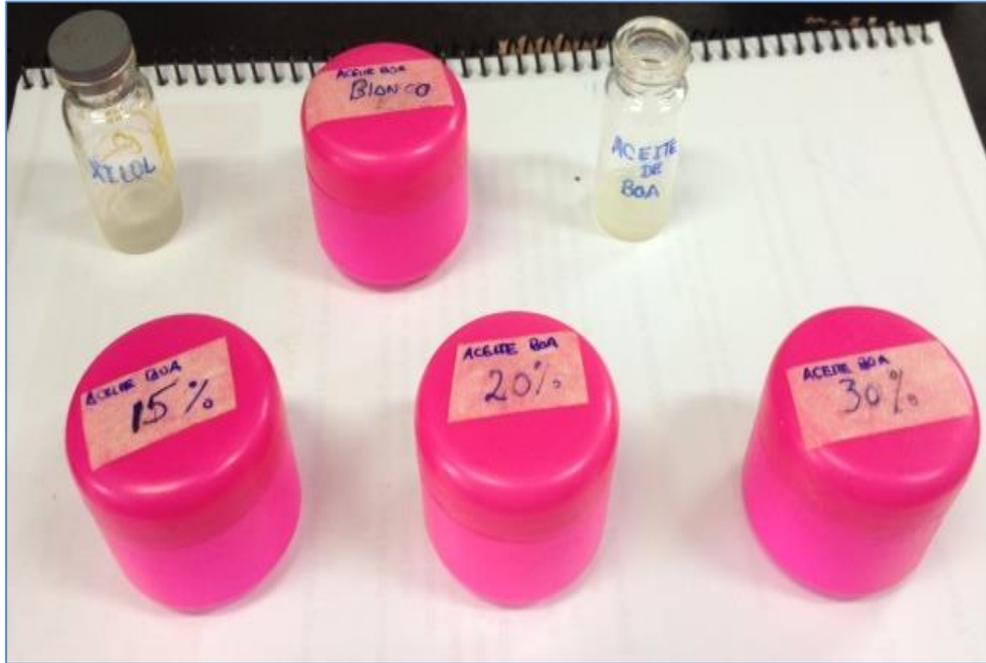
**Figura 18.** Aplicación tópica de la grasa de *Boa Constrictor constrictor* “Boa Mantona” en la oreja de ratón.



**Figura 19.** Porción del pabellón auricular del ratón extraída con el sacabocado.



**Figura 20.** Peso de la porción del pabellón auricular extraída con el sacabocado



**Figura 21.** Muestra de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa Mantona” y las cremas elaboradas al 15,20 y 30% de concentración.