



Universidad Norbert Wiener

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
E.A.P. de Farmacia y Bioquímica

**Potencial Actividad antiinflamatoria de la crema a partir de las
lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana*
Mill “Palta Fuerte” sobre ratones albinos**

Tesis para optar el Título Profesional de
Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Choquelahua Paquiyauri, Yanina

Br. Illesca Ramón, Jenny

Asesor:

MSc. J. Jonathan Nué Martínez

Lima, Perú.

2018

DEDICATORIA

A DIOS, por brindarme salud y tranquilidad para poder realizar esta investigación. A mi hermano Frank por el apoyo incondicional, a mi esposo por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles de mi vida

A mis padres, por brindarme su apoyo y fortaleza durante todo el proceso de aprendizaje de mi carrera, a mis hijas por la paciencia y por su comprensión.

Jenny Illesca Ramón

A Dios por permitirme tener vida, salud y fuerza para lograr mis objetivos.

A mi madre Por ser mi motivación, fuerza para lograr con éxito mi proyecto de tesis

A mi padre y hermanos por brindarme el apoyo, confianza y comprensión incondicional para lograr mis ideales.

Yanina Choquelahua Paquiyaauri

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por guiar nuestro camino y regalarnos esta profesión para estar al servicio de la sociedad quien nos necesita.

Nuestro profundo agradecimiento al Dr. Jonathan Nué Martínez por su experiencia conocimientos y su tiempo dedicado al desarrollo de la parte metodológica de nuestro estudio.

A nuestros compañeros y amigos por su motivación y alegría nos dieron fortaleza para finalizar este trabajo.

Un sincero y profundo agradecimiento a los excelentes profesionales y maestros de nuestra facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener por brindarnos ayuda en consultas relacionadas al estudio y brindarnos el lugar de trabajo y los medios necesarios para realizar nuestra investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRAC	xi
ABREVIATURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I:	2
1.1 DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	2
1.2 IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.5 VARIABLES	5
1.5.1 Variable independiente.....	5
1.5.2 Variable dependiente.....	5
1.6 HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II:.....	6
MARCO TEÓRICO	6
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1.1 Antecedentes nacionales.....	6
2.1.2 Antecedentes internacionales	8
2.2. BASES TEÓRICAS	10
2.2.1 Inflamación.....	10
2.2.2 Estudio botánico de la especie vegetal <i>Persea americana</i> Mill “Palta fuerte.....	16
2.2.2.1. Familia <i>Lauraceae</i>	16
2.2.2.2. Género <i>Persea</i>	16
2.2.2.3. Descripción botánica de <i>Persea americana</i> Mill.....	17

2.2.2.4.	Hábitat y distribución.....	17
2.2.2.5.	Etnofarmacología.....	18
2.2.2.6.	Uso farmacológico.....	18
2.2.2.7	Componentes fitoquímicos de <i>Persea americana</i> Mill	18
2.2.2.8	Actividad biológica de <i>Persea americana</i> Mill	19
2.2.2.9	Lactonas sesquiterpénicas.....	19
CAPITULO III:.....		28
METODOLOGÍA		28
3.1.	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	28
3.1.1	Tipo de la investigación	28
3.1.2	Nivel de la investigación	28
3.2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	28
3.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	29
3.3.1	Población.....	29
3.3.2	Muestra.....	29
3.4.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS	29
3.4.1	Técnica	29
3.4.2	INSTRUMENTOS	31
3.5.	MATERIALES Y REACTIVOS	31
3.6.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	32
3.7.	TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DE ANÁLISIS DE DATOS	40
CAPITULO IV:		40
RESULTADOS		41
4.1.	RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN	41
4.4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
CAPÍTULO V:.....		51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		51
5.1.	CONCLUSIONES	51
5.2.	RECOMENDACIONES.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		53

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 01 Preparación de las cremas farmacéuticas: a la crema base se le Adiciono un peso equivalente del extracto de <i>Persea americana Mill</i> para obtener concentraciones de 1%, 5%,10%,20%	34
Tabla 02 Tabla Procedimiento de la inducción de la inflamación con el xilol y tratamiento con las cremas preparadas con el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i> “Palta Fuerte” de diferentes concentraciones (1%, 5%, 10% y 20%)	36
Tabla 03 Grupos a recibir tratamiento	37
Tabla 04 Grupo control	37
Tabla 05 Grupo problema – crema al 1% del extracto clorofórmico de las Testas de <i>Persea americana Mill</i> “Palta Fuerte”	38
Tabla 06 Grupo problema – crema al 5% del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i> “Palta Fuerte”	38
Tabla 07 Grupo problema – crema al 10% del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i> “Palta Fuerte”	38
Tabla 08 Grupo problema – crema al 20% del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i> “Palta Fuerte”	38
Tabla 09 Grupo problema – Diclofenaco gel al 1 %	39
Tabla 10 Grupo problema – Hidrocortisona crema al 1 %	39
Tabla 11 Solubilidad del extracto clorofórmico de las testas	41
Tabla 12 Resultados del análisis cualitativo del extracto clorofórmico	41
Tabla 13 Características de la crema	42
Tabla 14 Porcentaje de inhibición de la inflamación de las orejas de los ratones tratados.	42
Tabla 15 Porcentajes de inhibición de los promedios de los diferentes grupos tratados con las cremas formuladas del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i> Palta fuerte	43

Tabla 16	Comparación de las respuesta antiinflamatorias de las cremas formuladas con el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana Mill</i>	43
Tabla 17	Test HSD de Tukey de las comparaciones múltiples	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.	
Figura 01	Principal esquema bio sintético de las prostaglandinas	13
Figura 02	Reacción de la Ciclooxygenasa	14
Figura 03	Conversión de PGG ₂ en PGH ₂ ; reacción de PG hidroxiperoxidasa	14
Figura 04	Síntesis del TXB ₂ a partir de PGH ₂	14
Figura 05	Sitios de acción de inhibidores de síntesis de prostaglandinas	15
Figura 06	Mapa de distribución geográfica de la familia Laureaceae	17
Figura 07	Biogénesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isopreno que contienen.	21
Figura 08	Estructuras y enumeración de los carbonos en seis núcleos de Sesquiterpenlactonas	22
Figura 09	Biogénesis de los sesquiterpenos cíclicos, a partir del catión E, E farnesilo y E-Z-farnesilo.	23
Figura 10	Formación de diversos esqueletos sesquiterpenlactónicos a partir del esqueleto de germacranólido.	24
Figura 11	Biogénesis de formación del (+)-Custunólido.	25
Figura 12	Marcha de Clark	33
Figura 13	Test HSD de Tukey de todos los grupos	45
Figura 14	Test HSD de Tukey de grupos con % de inhibición sup.al 60 %	46
Figura 15	Test HSD de Tukey de grupos con % de inhibición inf.al 60%	47

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo N° 1 Matriz de Consistencia	60
Anexo N° 2 Clasificación Botánica.....	61
Anexo N° 3 Testimonios fotográficos.....	62
Anexo N° 4 Flujograma del proceso experimental.....	67

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antiinflamatoria de la crema a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas del extracto clorofórmico de las semillas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”. La investigación es de tipo aplicada, consta de un Diseño Experimental, con un Nivel Exploratorio y descriptivo. El proceso experimental fue realizado en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Norbert Wiener mediante el método de extracción continua en Soxhlet y para medir la actividad terapéutica se prepararon cremas a diferentes concentraciones (1, 5, 10, 20 %), a base del extracto clorofórmico conteniendo las lactonas sesquiterpénicas, siendo capaz de reducir la inflamación causada por el xilol, mejorando la permeabilidad vascular. Como resultados de la investigación se demostró efectividad sobre el modelo de inflamación local inducida por xilol en el pabellón auricular del ratón, donde las cremas al 1%, 5%, 10%, 20% inhibieron la inflamación del pabellón auricular (oreja derecha), en un 44,94%; 60,20%; 61,04%, 67,56; respectivamente. Los fármacos antiinflamatorios (Diclofenaco al 1% en gel e Hidrocortisona al 1% en pomada) indujeron una inhibición de la inflamación 64,34% y 81,75%, respectivamente. Comparando los porcentajes de inhibición de la inflamación se muestra una similitud significativa entre el tratamiento con la crema al 5 y 10% a base del extracto clorofórmico, además hay una mayor actividad de la crema al 20% frente al Diclofenaco al 1% en gel. Por lo que se demuestra la actividad antiinflamatoria de las testas de *Persea americana* Mill. “Palta fuerte”.

Palabras clave: Extracto clorofórmico, Palta, Extracción continua, Lactonas sesquiterpénicas.

ABSTRAC

The objective of this investigation was to evaluate the anti-inflammatory activity of the sesquiterpene lactones isolated from the polar fraction of the chloroformic extract of the seeds of *Persea Americana Mill* "Palta fuerte". The study is of application type, it consists of an Experimental Design, with an Exploratory and descriptive Level. The experimental process was carried out in the laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the Norbert Wiener University using the technique of thin layer chromatography, continuous extraction method in Soxhlet and to measure the therapeutic activity creams were prepared at different concentrations (1, 5, 10, 20%), based on the polar fraction of the chloroformic extract containing the sesquiterpene lactones, being able to reduce the inflammation caused by xylol, improving the vascular permeability. As results of the investigation, the effective effect on the model of local inflammation induced by xylol in the mouse ear pavilion was demonstrated, where creams at 1%, 5%, 10%, 20% inhibited the inflammation of the auricle (right ear), at 44.94%; 60.20%; 61.04%, 67.56; respectively. Anti-inflammatory drugs (Diclofenac 1% gel and Hydrocortisone 1% ointment) induced an inhibition of inflammation 64.34% and 81.75%, respectively. Comparing the percentages of inhibition of inflammation shows a significant similarity between the treatment with the cream at 5 and 10% based on the polar fraction of the chloroform extract, in addition there is a greater activity of the cream at 20% against diclofenac at 1 % gel. Therefore, the anti-inflammatory activity of the seeds of *Persea Americana Mill*. "Palta fuerte" is demonstrated.

Keywords: Chloroform Extract, Avocado, Continuous Extraction, Sesquiterpenic Lactones.

ABREVIATURAS

H ₂ O (d)	agua destilada
EtOH	etanol
MeOH	metanol
BuOH	butanol
EtOAc	acetato de etilo
N-hex	n-hexano
CHCl ₃	cloroformo
Me ₂ CO	acetona
Bz	benceno
EP	éter de petróleo
Et ₂ O	éter etílico

INTRODUCCIÓN

La presente investigación refiere al estudio de las testas de *Persea americana* Mill, cuyo fruto es ampliamente empleado tanto como alimento, como por sus propiedades medicinales, algunas de las cuales ya han sido descubiertas, pero el consumo se limita al pericarpio, dejando la testa como desecho o para replantar la especie, nunca con fines alimenticios y pocas veces con fines medicinales.

El Perú posee una gran biodiversidad, siendo nuestra flora, una fuente de compuestos químicos con variadas propiedades medicinales, de amplio uso en la medicina tradicional, aunque muchas de ellas aún no han sido validadas científicamente. En los últimos años un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones, porque son accesibles y más baratos que los productos farmacéuticos. (1)

Por lo tanto la investigación se sustenta en la siguiente interrogante ¿Tendrán actividad antiinflamatoria las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte”? En tal sentido el desarrollo de la temática está estructurado de la siguiente manera:

En el capítulo I se realiza el planteamiento y formulación del problema de estudio. En el capítulo II se presentan los antecedentes nacionales e internacionales, y las bases teóricas que corresponden a las variables de estudio respectivamente, así mismo se realiza la definición de términos relacionados. En el capítulo III se plantea la Metodología de la investigación, se explican las técnicas e instrumentos de recolección de datos y fundamento de los equipos utilizados en la investigación. Así mismo el procesamiento y análisis de los datos estadísticos.

En el capítulo IV se detalla la discusión de los resultados y se realiza la comprobación de la hipótesis y como última parte de la investigación se presenta el Capítulo V donde encontramos las Conclusiones y Recomendaciones.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El reino vegetal ha sido desde la antigüedad un recurso al alcance del hombre tanto para la alimentación como para la recuperación de la salud frente a las enfermedades. Para este último fin, se usaban las llamadas plantas medicinales, que eran tenidas como seres con propiedades místicas, cuyo conocimiento se transmitía de generación en generación. Aunque no había un interés en encontrar el por qué o cómo actuaban, su uso seguía expandiéndose con apego a lo mágico y místico.

En los tiempos actuales cientos de plantas se siguen usando en el argot medicinal popular dentro de las terapias alternativas o complementarias. Así durante las últimas décadas muchos grupos se han inclinado hacia la investigación de los productos naturales, su química y las posibles modificaciones estructurales. El metabolismo secundario de las plantas superiores ha sido un bastión de moléculas para el desarrollo y manufactura de nuevos entes farmacológicos, es así que la investigación de productos naturales ocupa un lugar de preeminencia en las grandes industrias farmacéuticas internacionales.

Los productos naturales pueden ser empleadas para tratar diversas enfermedades y dolencias; una de las más comunes son dolor e inflamación, que afectan a gran número de la población.

Según García, P: “La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso, cáncer”.⁽²⁾

La triada dolor, fiebre e inflamación, constituyen síntomas cardinales de las enfermedades, lo que ha propiciado investigaciones complejas para hallar compuestos con propiedades paliativas, antiinflamatorias frente a los procesos inflamatorios en el organismo producidos tanto por alguna alteración fisiológica;

como por procesos externos al individuo que evidencian un daño tisular causado por estímulos químicos, térmicos o mecánicos⁽³⁾

En los últimos años ha aumentado el estudio de productos naturales para mantener la salud e incrementar la esperanza de vida, muchas veces relacionando lo alimenticio con lo medicinal, recurriendo a los principios de homeostasis y buscando una dieta que provea tanto nutrición como activos con propiedades farmacológicas.

La presente investigación se origina ante el desperdicio de grandes cantidades de las testas de *Persea americana Mill*, cuyo fruto es de consumo masivo en la sociedad peruana y a nivel internacional.

En este trabajo se plantea determinar la actividad antiinflamatoria de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill* “Palta fuerte”, así nos planteamos la siguiente pregunta ¿Tendrá actividad antiinflamatoria la crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill*?

1.2 IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿Tendrán actividad antiinflamatoria la crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill*?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Cómo elaborar el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill*?
2. ¿Existen lactonas sesquiterpénicas en el extracto clorofórmico de las semillas de *Persea americana Mill*?
3. ¿En qué concentración presentara efecto antiinflamatorio la crema de lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill* “Palta Fuerte” frente a cepas de ratones?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill* “Palta Fuerte”

1.3.2 Objetivos específicos

1. Elaborar el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill*. Mediante el método Soxhlet.
2. Identificar las lactonas sesquiterpénicas presentes en el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill*
3. Extraer las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill*.
4. Formular una crema a diferentes concentraciones con las lactonas sesquiterpénicas obtenidas de las testas de *Persea americana Mill*
5. Evaluar el efecto antiinflamatorio de las cremas de lactonas de *Persea americana Mill* mediante el método de edema auricular frente a cepas de ratones albinos.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se justifica teóricamente ya que los resultados sumaran al marco teórico existente sobre los conocimientos básicos, identificando la naturaleza orgánica de los compuestos de las semillas de *Persea americana Mill* y su actividad antiinflamatoria en un modelo murino sobre ratones albinos. La investigación busca revalorizar las semillas de *Persea americana Mill* que generalmente se desecha al no ser consumible en su forma natural.

En cuanto a su alcance esta investigación pretende revalorizar el consumo de productos naturales incluyendo partes que normalmente no se consumen en el quehacer diario los cuales tienen beneficios para la salud no solo en el aspecto nutricional sino también pueden utilizarse en el tratamiento de diversas patologías.

1.5 VARIABLES

1.5.1 Variable independiente

Crema elaborada con las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill.*

1.5.2 Variable dependiente

Actividad antiinflamatoria

1.6 HIPÓTESIS

H.P: La crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill* posee actividad antiinflamatoria.

H.E:

1. Existen lactonas sesquiterpénicas en el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill.*
2. Es posible extraer las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill.*
3. Es posible formular una crema a W/O con las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill.*
4. Existe una concentración óptima para obtener el efecto antiinflamatorio de la crema de lactonas de *Persea americana Mill* frente a cepas de ratones albinos

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 Antecedentes nacionales

En 2016, **Jiménez Colqui, S.**; en su trabajo de tesis titulado Actividad analgésica del extracto etanólico de las cáscaras de las pepas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte” en ratones para optar al título de Químico farmacéutico, tuvo como objetivo determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte” en ratones albinos. Para ello emplearon ratones albinos, aplicaron el método de Kostery *col.* modificado de contorsiones inducidas por ácido acético glacial 0,6 % usado como estimulante de contorsiones. Las concentraciones evaluadas fueron 50, 100 y 200 mg/kg, de extracto de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”, comparado con Tramadol 40 mg/kg y ácido acetilsalicílico 200 mg/kg. Obtuvieron como resultados un porcentaje de reducción de contorsiones con ácido acetilsalicílico 200 mg/kg un 88%, Tramadol 40 mg/kg 94%, *Persea americana* Mill 100 mg/kg 88%, *Persea americana* Mill 200 mg/kg 94%. Así se comprobaron la actividad analgésica del extracto etanólico de las cáscaras de las pepas de *Persea americana* Mill con una concentración de 200 mg/kg y un 94% de reducción de contorsiones comparado con el Tramadol 40 mg/kg que llegan a tener el mismo efecto.⁽⁴⁾

En 2014, Soto M., realizó la investigación en la Ciudad de Trujillo-Perú, en la facultad de farmacia y bioquímica titulada **Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia Solanaceae**, dicho objetivo fue evaluar la actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de las hojas de *Solanum multifidum* Lam y *Lycianthes lycioides* L Hassl utilizando el método de contorsiones inducidas por ácido acético, para ello a los animales de experimentación se les administro ácido acético al 1% vía intraperitoneal. Los grupos de animales de experimentación fueron divididos en grupos para la administración, así al grupo problema se le administró

alcaloides totales de las hojas *Solanum multifidum* Lam, dosis de 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg y alcaloides totales de las hojas de *Lycianthes lycioides* L Hassl dosis de 2,5 mg/kg, 5 mg/kg y 10 mg/kg de peso, vía oral. Al grupo patrón: indometacina 2 mg/mL y 4 mg/mL de alcaloides totales (AT) de *Solanum multifidum* Lam y *Lycianthes lycoide* L Hassl disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO). Al grupo control positivo: cloranfenicol en concentración de 100 µg/mL (10 µL/disco). Los resultados del estudio muestran que los alcaloides totales de ambas especies presentaron actividad antinociceptiva mostrando mayor porcentaje de inhibición, a dosis de 10 mg/kg. Asimismo, estos alcaloides inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomona aeruginosa*, a las concentraciones de 2 mg/mL y 4 mg/mL, mostrando mayor bioactividad frente a *Staphylococcus aureus*. Debido a estos resultados los investigadores concluyeron que se evaluó la actividad antinociceptiva y antibacteriana obteniéndose un porcentaje de inhibición de contorsiones (82,3%), seguido de *Solanum multifidum* Lam. 76,5%), mostrando mayores porcentajes de inhibición frente a *Staphylococcus aureus*(ATCC25923) a la concentración de (87,8 %)respectivamente.⁽⁵⁾

En el 2014, **Salazar A. y col.;** realizaron la investigación s o b r e l a Acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la pepa de *Jatropha curcas* L, con el objetivo de evaluar la acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la pepa de *Jatropha curcas* L, utilizando el método de las contorsiones inducidas por ácido acético al 1,5%, 0,1mL/10g vía intraperitoneal; así una hora antes de la evaluación a los animales de experimentación se le administro la fracción soluble y no soluble vía oral en dosis de 250,500,750 mg/kg. Luego cada 15 minutos se cuantificó el número de arcadas y contorsiones, como patrón se empleó Tramadol con una concentración de 10mg/kg y Diclofenaco en concentración de 10 mg/kg vía oral. Así también se observó letalidad, convulsiones, cola de Straub, sedación, excitación, marcha anormal, saltos, incoordinación motora, pilo erección, estereotipias, sacudidas de cabeza, escozor y alteración de la respiración. Los resultados muestran que la

inhibición de las contorsiones fue 62,27%, 56,86%, 44,12% y 42,06% para los grupos 5, 2,4 y 3, respectivamente. Los investigadores concluyen que se evaluó el extracto de *Jatropha curcas L*, el cual tiene actividad analgésica y neurológica, a una dosis de 750 mg/kg inhibiendo el 62,27% de capacidad inhibitoria, la pepa de *Jatropha curcas L*, no presenta actividad neurofarmacológica dosis- efecto.⁽⁶⁾

2.1.2 Antecedentes internacionales

En 2016, Fonseca Duarte, P. *et al*; en su investigación **“Palta: características, beneficios en la salud y usos”** que tuvo como objetivo presentar una revisión de la literatura sobre las características, aplicaciones y potencial del aguacate (*Persea americana*). El estudio muestra que el extracto fluido de las hojas de aguacate se usa ampliamente en productos farmacéuticos, principalmente debido a la característica diurética de los presentes compuestos en las hojas de las plantas. Con el aumento de la investigación que respalda las características nutricionales y los beneficios del aguacate, la tendencia es aumentar la producción y la explotación de esta materia prima en Brasil, como también se observa en otros países.⁽⁷⁾

En 2014 Moreno, E. y *col.*; en su trabajo **“Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de los extractos de la pulpa de seis frutas tropicales”**. En esta investigación seis pulpas de frutas tropicales de origen colombiano: curuba (*Passiflora tripartidavar. Mollissima*), gulupa (*Passiflora edulis Sims*), aguacate variedad Hass (*Persea Americana Mill*), lulo (*Solanum quitoense Lam.*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea Sendt*) y uchuva (*Physalis peruviana L*) fueron empleadas para realizar el estudio del contenido total de fenoles, por el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante por los métodos químicos: DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazilo) y FRAP (poder antioxidante para reducir iones férricos), y por los métodos biológicos: oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) e inhibición del estrés oxidativo sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Se encontró que el extracto de curuba presentó el mayor contenido total de fenoles con un valor de $683,48 \pm 18,48$ mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra B.H. (Base Húmeda). En cuanto a los ensayos de actividad antioxidante el extracto de aguacate presentó

mayor actividad por el método DPPH con un valor de $165,10 \pm 4,36 \mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g muestra B.H.}$, mientras que el extracto de Curuba presentó la mayor actividad antioxidante por el método FRAP con un valor de $148,07 \pm 12,07 \mu\text{mol Trolox}/\text{g muestra B.H.}$ En el ensayo de oxidación de LDL los extractos de Curuba y uchuva presentaron la mayor capacidad de inhibición en la oxidación de dichas lipoproteínas con un valor de $1,61 \pm 0,01$ y $1,46 \pm 0,06 \text{ nmol TMP (Tetrametoxipropano)}/\text{g muestra B.H.}$, respectivamente. En el ensayo de inhibición del estrés oxidativo sobre el crecimiento de *S. cerevisiae* los extractos de aguacate, Curuba y Gulupa tuvieron el mayor efecto protector obteniéndose una concentración celular de $1,96 \times 10^7$ células/mL, $1,86 \times 10^7$ células/ mL, y $1,54 \times 10^7$ células/mL, respectivamente, frente al comparado de $0,99 \times 10^7$ células/mL.⁽⁸⁾

En 2014, García, A.; y col.; realizaron la investigación **“Validación pre-clínica de la actividad analgésica periférica y central de la decocción de hojas frescas de Persea americana Mill. Aguacate y Musax paradisiaca L. Plátano”** con el objetivo de evaluar la actividad analgésica periférica y central preclínicas de la decocción al 30% de hojas frescas de *Persea americana* Mill. Aguacate y *Musax paradisiaca* L. “Plátano” empleando la metodología de las contorsiones inducidas por ácido acético 0,75% (0,1mL/10g) por vía intra peritoneal. Se administró un equivalente a 1,5 y 10g de material vegetal fresco/kg a los animales de experimentación y se les observó en una jaula por separado las contorsiones cada 15 minutos. Después de 60 minutos de haber sido administrado el tratamiento se sumergió el tercio distal de su cola en agua a 55°C con total libertad para retirarla tan pronto sintiese el calor, se repitió 2 veces la inmersión de la cola. Los resultados de la investigación muestra que las hojas frescas de *Persea americana* Mill, *Musax paradisiaca* L, “plátano” a las dosis estudiadas, inhibieron de forma significativa la respuesta dolorosa inducida por ácido acético con $p=6,909 \times 10^{-8}$ y $p=2,842 \times 10^{-3}$ respectivamente. En la evaluación de “retirada de cola” de las hojas frescas de *Persea americana*, tuvo una respuesta significativa no dosis dependiente a (5g/kg), con una $p=7,018 \times 10^{-3}$. La investigación concluye que se evaluó las decocciones al 30% de *Persea americana* Mill y *Musax paradisiaca* L, “plátano”, que ambas

presentan un índice inhibitorio de forma significativa de la respuesta dolorosa inducida por ácido acético ,mostrando la actividad analgésica periférica y central.⁽⁹⁾

En el 2014, Gonzales, A. y col.; Realizaron la investigación de la **Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa*(J. Ellis &Solander)J.V. Laumouroux**, con el objetivo de evaluar la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto en diclorometano del alga roja *Galaxaura rugosa*(J. Ellis &Solander) J.V. Laumouroux, así como la composición fitoquímica de esta especie vegetal empleando la técnica del edema de la oreja inducido por aceite de Croton en ratones machos OF – 1 a las dosis 0,001 0,125; 0,25; 0,5; 1 y 2 mg/oreja. Se evaluó también la actividad analgésica del extracto en el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético a 10, 8%, por vía intraperitoneal, a las dosis 3; 6; 12,5; 25; 100mg/kg, como grupo control se utilizó ácido acetilsalicílico a 68 mg/kg. Los resultados mostraron que el extracto en diclorometano de *Galaxaura rugosa* (J. Ellis &Solander) a partir de la dosis de 0,125 mg/oreja presenta una potente actividad antiinflamatoria (superior al 40 %). El extracto logró reducir las contorsiones en más de un 75% a partir de la dosis de 6mg/kg. Para concluir el estudio se evaluó el poder inhibitorio de la inflamación el cual presenta un efecto máximo inhibitorio muy cercano al 80%, así como una alta eficacia analgésica teniendo un 94,68% de efectividad máxima en concentraciones de 100mg reduciendo las contorsiones.⁽¹⁰⁾

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1 Inflamación

La inflamación fue descrita por Celsius en el año 10 a.C. como enrojecimiento e inflamación con calor y dolor. El proceso inflamatorio puede ser provocado por numerosos estímulos como agentes biológicos, isquemia, interacción antígeno - anticuerpo, lesiones térmicas o fisicoquímicas. Esta respuesta está acompañada con tumefacción (edema), rubor, calor, dolor espontáneo a la palpación y desorden de la función

tisular. La inflamación ocurre en tres fases distintas, por diferentes mecanismos:

1. Una fase transitoria aguda, caracterizada por vasodilatación local, hiperemia activa e incremento en la permeabilidad capilar.
2. Una fase subaguda tardía, visiblemente caracterizada por un período de hiperemia pasiva, infiltración de leucocitos y fagocitos.
3. Una fase proliferativa crónica, en el cual ocurre degeneración de tejidos, lesión endotelial y fibrosis.

La inflamación se describe como la respuesta del tejido vivo vascularizado frente a una lesión; puede ser originada por agentes biológicos, físicos o químicos.⁽¹¹⁾ Durante el proceso existe liberación de sustancias mediadoras -bradiquinina, prostaglandina, histamina y serotonina-, que inducen permeabilidad vascular ⁽¹²⁾ Estas sustancias que se liberan en el proceso inflamatorio, denominadas ‘sopa algogénica’, actúan en las terminaciones nerviosas activando el segundo tipo de nociceptor (tipo C) y generan dolor.⁽¹³⁾ La IL-1 permite la inducción de genes que codifican para la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2), la fosfolipasa A tipo 2 (PLA2) y el óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Otras citoquinas, como IL-2, IL-6 e IL-8, contribuyen a la aparición de manifestaciones de respuesta inflamatoria.⁽¹⁴⁾

La inflamación es una respuesta a un estímulo específico, mediada por diferentes señales bioquímicas y fisiológicas. Los mediadores pertenecen a diferentes clases químicas como aminas biógenas (histaminas, serotonina), proteínas y péptidos (enzimas hidrolíticas, citoquinas, factores de crecimiento, factores activadores de colonia, factores de complemento, anticuerpos, quininas), especies reactivas de oxígeno (anión superóxido, hidroperóxido, radicales hidroxilos), y lípidos (factores activadores de plaquetas, prostanoides, leucotrienos). Estos mediadores inician, mantienen, agravan y modulan el curso inflamatorio.⁽¹⁵⁾

La inflamación es una respuesta protectora, cuyo principal objetivo es librar al organismo del elemento causante del daño celular, como microbios y toxinas, y de las consecuencias de ese daño, con formación de células y tejidos necróticos. Sin la inflamación, las infecciones se diseminarían y las

heridas nunca cicatrizarían. Por otro lado, la inflamación no curada adecuadamente es la base de las reacciones de hipersensibilidad y enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar.⁽¹⁶⁾

Prostaglandinas (PGs)

Son una mezcla de ácidos liposolubles, conocidos por las siglas PG seguida de la letra E, F, A o B y un índice numérico que puede ser seguido de una letra griega. Las prostaglandinas son reguladores bien conocidos del crecimiento de la célula. Se sintetizan a partir del ácido araquidónico (Figura.1) por la acción de diferentes enzimas como las ciclooxigenasas (COXs).⁽¹⁷⁾

La vía por la cual el ácido araquidónico se metaboliza a eicosanoides depende del tejido, del estímulo y de la presencia de inductores o inhibidores endógenos y farmacológicos.⁽¹⁸⁾

Las prostaglandinas constituyen una parte de productos fisiológicamente activos del metabolismo del ácido araquidónico, permitió el descubrimiento del tromboxano A₂ (TXA₂), de la prostaciclina (PGI₂) y de los leucotrienos (LTs).⁽¹⁹⁾

El sistema enzimático central de la biosíntesis de prostaglandinas es la prostaglandina G/H sintasa (PGS), bifuncional que cataliza la ciclación oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados. El ácido araquidónico proviene de los fosfolípidos de membrana por acción de la hidrolasa fosfolipasa A₂. Este paso de rotura es el paso limitante de velocidad en la síntesis de prostaglandinas, y ciertos agentes que estimulan la producción de prostaglandinas lo hacen estimulando la actividad de la fosfolipasa A₂.

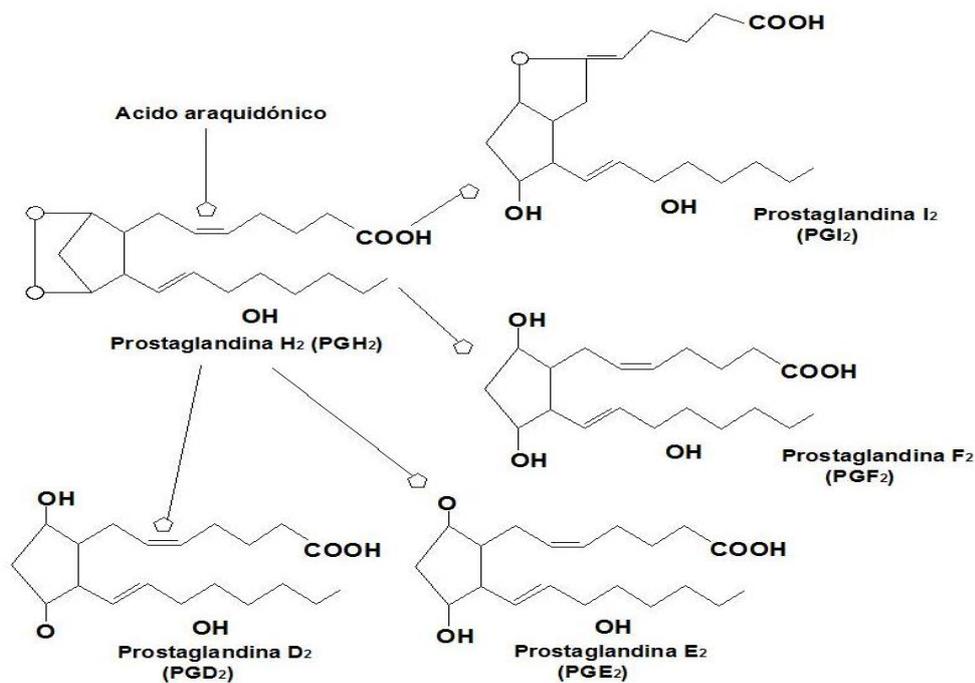


Figura.1. Principal esquema bio sintético de las prostaglandinas⁽²⁰⁾

Fuente: Bergström, S; Ryhage R⁽²⁰⁾

Existen dos formas de ciclooxygenasa (COX) o prostaglandina G/H sintasa (PGS). La COX - 1, o PGS - 1, es una enzima constitutiva que se encuentra en la mucosa gástrica, las plaquetas, el endotelio vascular y el riñón. La COX - 2, o PGS - 2 es inducible, y se genera en respuesta a la inflamación. La COX - 2 se expresa principalmente en macrófagos activados y en monocitos cuando son estimulados por el factor activador plaquetario (PAF), la interleuquina - 1, o el lipopolisacárido bacteriano (LPS), y en las células del músculo liso, células epiteliales, endoteliales y neuronas. La inducción de la PGS - 2 es inhibida por los glucocorticoides. Las dos formas de PGS catalizan la oxigenación del ácido araquidónico a PGG₂ como la reducción de la PGG₂ a PGH₂⁽²¹⁾. Los glucocorticoides atraviesan la membrana citoplasmática e interactúan con los receptores específicos en el citoplasma, produciendo un cambio en la conformación y facilitando su translocación al interior del núcleo celular afectando la transcripción de genes, por ende su acción no es inmediata y su efecto se observa en un tiempo mayor después de su administración.

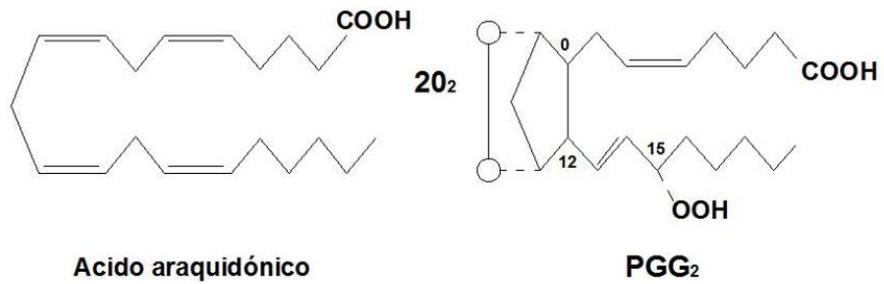


Figura.2. Reacción de la Ciclooxygenasa⁽²¹⁾

Fuente: Thomas M.⁽²¹⁾

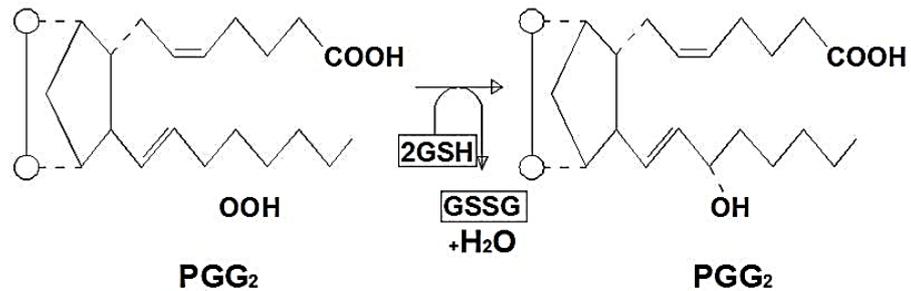


Figura.3. Conversión de la PGG₂ en PGH₂; reacción de la PG hidropoxidasa (PGH sintasa)⁽²¹⁾

Fuente: Thomas M.⁽²¹⁾

Las prostaglandinas tienen una vida media muy breve. En un corto tiempo después de su liberación son captadas rápidamente por células en donde son inactivadas, bien por oxidación del grupo hidroxilo en C-15 o por β -oxidación en el residuo carboxilo de la cadena.⁽²¹⁾

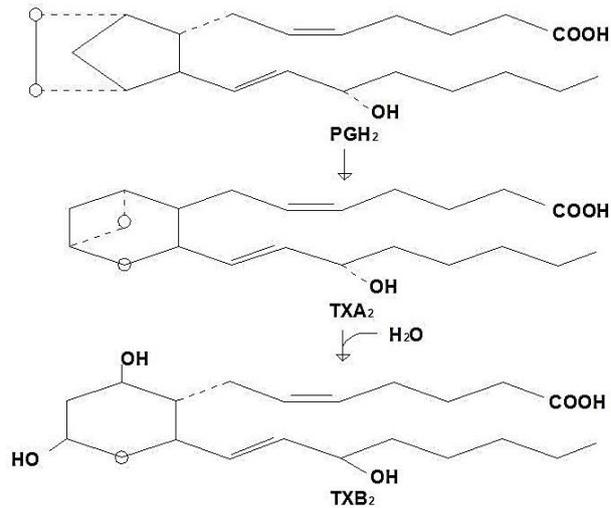


Figura.4. Síntesis del TXB₂ a partir de PGH₂⁽²¹⁾

Fuente: Thomas M.⁽²¹⁾

La producción de prostaglandina es inhibida por agentes antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos. Los agentes no esteroideos (NSAID), bloquean la producción de prostaglandinas al inhibir irreversiblemente a la enzima ciclooxigenasa. Los fármacos antiinflamatorios esteroideos, como la hidrocortisona, prednisona y betametasona, bloquean la liberación de prostaglandinas al inhibir la actividad de la fosfolipasa A₂, con lo cual interfieren en la movilización del ácido araquidónico. El paso limitante de la velocidad de la síntesis de prostaglandinas es la liberación de ácido araquidónico de los depósitos de los fosfolípidos de membrana en respuesta a la activación de la fosfolipasa A₂.⁽²¹⁾

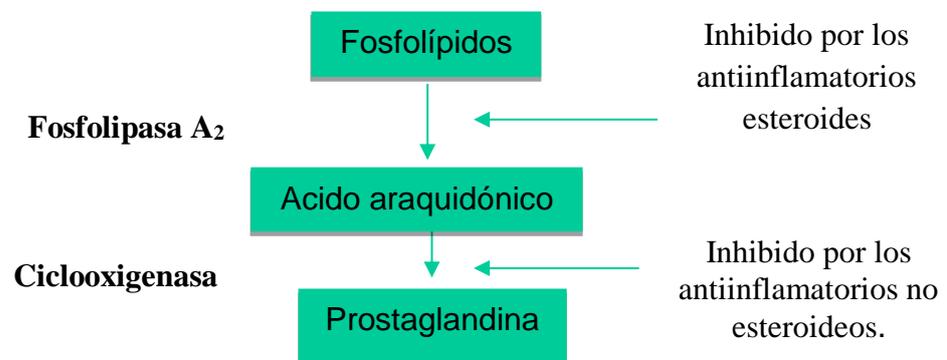


Figura.4. Sitios de acción de los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas

Fuente: Thomas M.⁽²¹⁾

2.2.2 Estudio botánico de la especie vegetal *Persea americana* Mill “Palta fuerte”

2.2.2.1. Familia *Lauraceae*

Los árboles de la familia *Lauráceae* son siempre verdes, tienen una altura de hasta 15 metros, de tronco recto, corto y corteza rugosa.

Hojas grandes, verdes, simples, alternas, de 6 - 30 cm de largo, que forman un ramaje denso y muy abundante.

Flores pequeñas, arracimadas, fragantes, blanco - verdosas, 1 - 3 cm de ancho.

Fruto comestible en forma de drupa esférica o piriforme, cáscara gruesa de color variable: verde, amarillo o violeta.

La pulpa es grasosa, amarillenta o verde; pepa única, dura, ovalada y oleosa.⁽²⁰⁾

- Porte: Árbol o arbusto.
- Hojas: Generalmente alternas o raramente opuestas, simples, enteras pecioladas, coriáceas, aromáticas y persistentes, perenninervadas o con nervaduras longitudinales, curvas.
- Flores: Actinomorfas, perfectas, polígamas o diclino - dioicas, dispuestas en inflorescencias cimosas o racimosas.
- Perianto: Formado por 6 pétalos unidos, dispuestos en verticilos de 3. estambres: Libres, definidos, dispuestos en verticilos de 3, anteras erguidas, 2 - 4 tecas, dehiscentes por valvas, todos los estambres pueden ser fértiles o parcialmente transformados en estaminodios.
- Gineceo: Súpero, unilocular, uniovulado, estilo simple, recto o curvado, estigma entero o lobulado.
- Fruto: Baya o drupa.
- Testas: La pepa de palta tiene una forma ovoide, con dos cotiledones carnosos, embrión pequeño y sin endosperma.⁽²²⁾

2.2.2.2. Género *Persea*

“Este género presenta amplia distribución en el continente americano desde la Florida hasta Argentina, con aproximadamente 90 especies, una

especie en las Islas Canarias y aproximadamente 100 especies en Asia (Kopp 1966, van der Werff 2002). Los principales centros de diversidad identificados para este género se ubican en América Central y el norte de Suramérica”.⁽²³⁾

2.2.2.3. Descripción botánica de *Persea americana* Mill

Según la clasificación botánica en el sistema de Cronquist (1988), la *Persea americana* Mill se identifica con el siguiente esquema:

División	:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	:	<i>Magnoliidae</i>
Orden	:	<i>Laurales</i>
Familia	:	<i>Lauraceae</i>
Género	:	<i>Persea</i>
Especie	:	<i>Persea americana</i> Mill
Nombre vulgar:	:	“Palta fuerte”

2.2.2.4. Hábitat y distribución

En cuanto a su distribución geográfica (Figura.5) se encuentra en los bosques pluviales de tierras bajas de todas las regiones tropicales y sub tropicales de ambos hemisferios.



Figura.5. Mapa de distribución geográfica de la familia Laureaceae⁽²⁴⁾

Fuente: Macías V ⁽²¹⁾

2.2.2.5. Etnofarmacología

Uso interno: La infusión se prepara con 1 cucharada de hojas frescas o secas para 1 litro de agua recién hervida: Beber 1 taza 3 veces al día.

Afecciones respiratorias (resfríos, tos, catarro, bronquitis); malestares estomacales; menstruación escasa y dolorosa.

Uso externo: La infusión se prepara con 1 cucharada de hojas frescas o secas para 1 litro de agua recién hervida. En enfermedades de la piel (granos, caspa); leucorrea. (Lavados de cabeza, vaginales o de lesiones de la piel).

Efectos: Antiséptico, emenagogo, emoliente, estomacal.

Precauciones: No se aconseja su uso durante el embarazo y lactancia. Puede reducir el efecto anticoagulante de medicamentos del tipo Warfarina.

Estos productos tienen el carácter de auxiliares sintomáticos y no reemplazan lo indicado por el médico en el tratamiento de una enfermedad.

Al consultar al médico, infórmele que está usando esta planta medicinal, evite su preparación en utensilios de aluminio.⁽²⁵⁾

2.2.2.6. Uso farmacológico

Las hojas de *Persea americana* Mill “palta fuerte” se emplean como antiinflamatorias, antidiarreico, cicatrizantes, antisépticas y vermífugas. Su aceite sirve para aplicar en la piel seca, prevención contra el envejecimiento cutáneo, ictiosis, psoriasis, eczemas secos, distrofia de la mucosa vulvar o vaginal, artritis reumatoide y esclerodermia difusa. Su actividad en Colombia también se traduce en tratamiento contra la artritis, hidropesía, antirreumático y antiofídico. de igual forma, el aceite se utiliza como ungüento para calmar el dolor.⁽²⁴⁾

2.2.2.7 Componentes fitoquímicos de *Persea americana* Mill

El aguacate se considera una de las principales frutas tropicales, ya que contiene vitaminas liposolubles que son menos comunes en otras frutas, además de altos niveles de proteínas, potasio y ácidos grasos insaturados. La pulpa de aguacate contiene aceite variable, y se usa

ampliamente en la industria farmacéutica y cosmética, y en la producción de aceites comerciales similares al aceite de oliva. Esta fruta ha sido reconocida por sus beneficios para la salud, especialmente debido a los compuestos presentes en la fracción lipídica, como el ácido graso omega, fitosteroles, tocoferoles y escualeno. Los estudios han demostrado los beneficios del aguacate asociados a una dieta balanceada, especialmente en la reducción del colesterol y la prevención de enfermedades cardiovasculares. La pulpa de aguacate procesada es una alternativa para utilizar frutas, que se puede utilizar en diversos productos alimenticios de valor agregado.⁽⁴⁾

2.2.2.8 Actividad biológica de *Persea americana* Mill

Persea americana Mill” Palta fuerte” presenta actividad antibacteriana, antihelmíntica, antiespasmódica, antiinflamatorias, antidiarreico, cicatrizantes, antisépticas y vermífugas. Su aceite sirve para aplicar en la piel seca, prevención contra el envejecimiento cutáneo, ictiosis, psoriasis, eczemas secos, craurosis por sequedad o distrofia de la mucosa vulvar o vaginal, artritis reumatoide y esclerodermia difusa. Su actividad en Colombia también se traduce en tratamiento contra la artritis, hidropesía, antirreumático y antiofídico. De igual forma, el aceite se utiliza como ungüento para calmar el dolor.⁽²⁴⁾

2.2.2.9 Lactonas sesquiterpénicas

Las lactonas sesquiterpénicas o sesquiterpenolidas constituyen un extenso grupo de productos naturales. Se conocen más de 4500 registros reportados en el buscador Sci Finder Scholar Estas son abundantes en Compuestas (Asteraceae)⁽²⁶⁾, y en menor extensión, en las Umbelíferas (Apiaceae).⁽²⁷⁾ En otras familias de plantas superiores, como *Lauraceae* y *Magnoliaceae*, también se encuentra este tipo de compuestos. De forma esporádica, se encuentran en hongos y plantas hepáticas.

Estructura molecular de las lactonas sesquiterpénicas

Son una clase de sesquiterpenoides de origen vegetal, que poseen un esqueleto fundamental de 15 átomos de carbono, que derivan de la unión cabeza-cola de tres fragmentos de isopreno, contienen un anillo lactónico en su estructura, y provienen biogenéticamente del *farnesil difosfato*. **(Figura. 6)**⁽²⁸⁾ Son compuestos lo suficientemente polares para ser insolubles en éter de petróleo pero no tan polares para solubilizarse en agua. Son solubles en etanol y metanol caliente, son muy solubles en cloroformo, diclorometano y éter etílico ⁽²⁸⁾

Distribución de las lactonas sesquiterpénicas

Las sesquiterpenlactonas son compuestos activos, que han sido aislados de una serie de especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional, que pertenecen fundamentalmente a la Familia *Asteraceae* (*Compositae*), se han reportado más de 3000 sesquiterpenlactonas diferentes en la literatura científica. Las concentraciones de sesquiterpenlactonas pueden variar entre el 0.01 y el 8% del peso seco y se encuentran generalmente en hojas y partes floridas. Se pueden encontrar en forma libre principalmente y raramente en forma glicosídica.⁽²⁸⁾

Clasificación

Las sesquiterpenlactonas se clasifican comúnmente de acuerdo con el tipo de núcleo que posean y con la terminación -ólido, que indica la existencia de un grupo funcional lactónico; por ejemplo las que tienen el núcleo tipo Germacrano se las llama Germacranólidos; las que tienen el núcleo tipo Eremofilano son Eremofilanólidos, las que contengan núcleo tipo Eudesmano son Eudesmanólidos, Heliangólidos, Michampanólidos, etc.⁽²⁸⁾

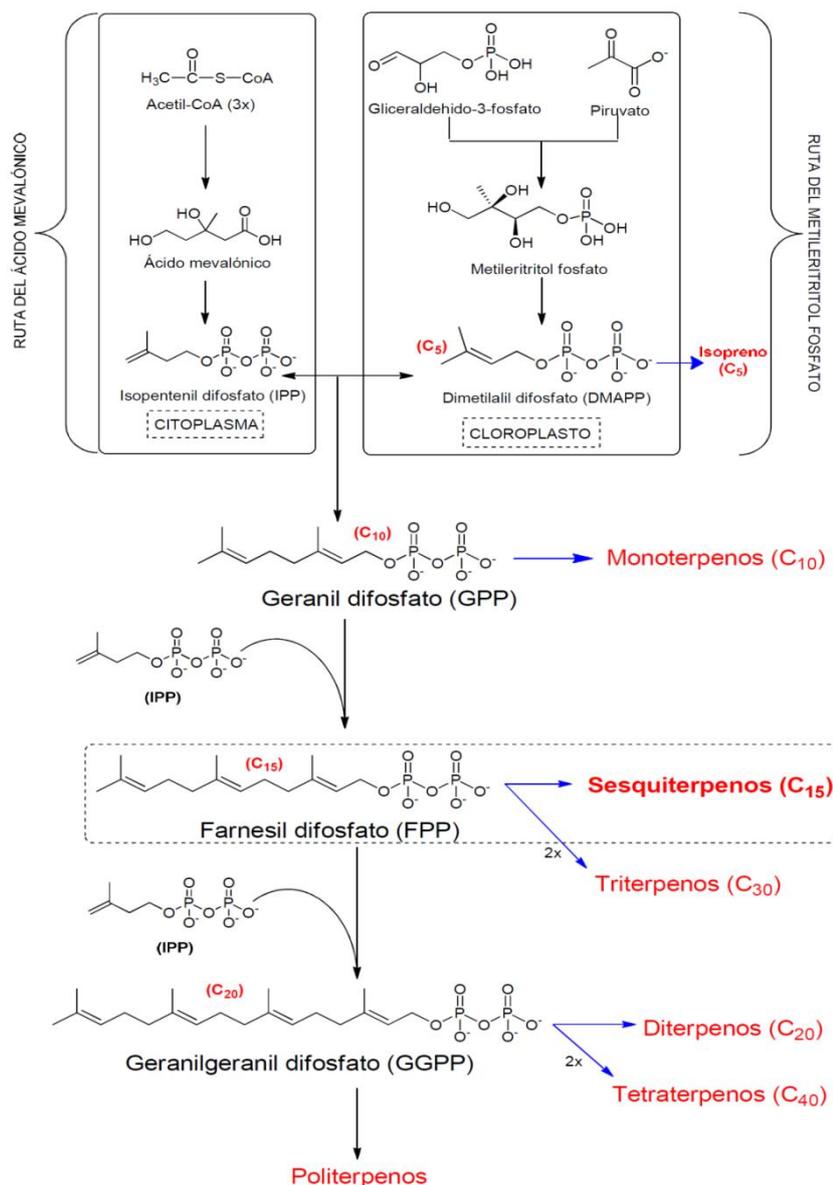


Figura. 6. Biogénesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isopreno que contienen.

Fuente: Chappell J, Coates R. ²⁸

Nomenclatura

Debido a la gran diversidad estructural de las sesquiterpenolactonas, no se cuenta con unas normas claras para su nomenclatura, por esto se acostumbra denominarlas con nombres vulgares p.ej. Helenalina, Mexicanina, Artemisinina, etc.; aunque algunos autores las nombran relacionando el núcleo básico y los sustituyentes. La Figura.7 muestra algunos ejemplos de núcleos de sesquiterpenolactonas y la manera como se enumeran los átomos de carbono del núcleo básico⁽²⁹⁾.

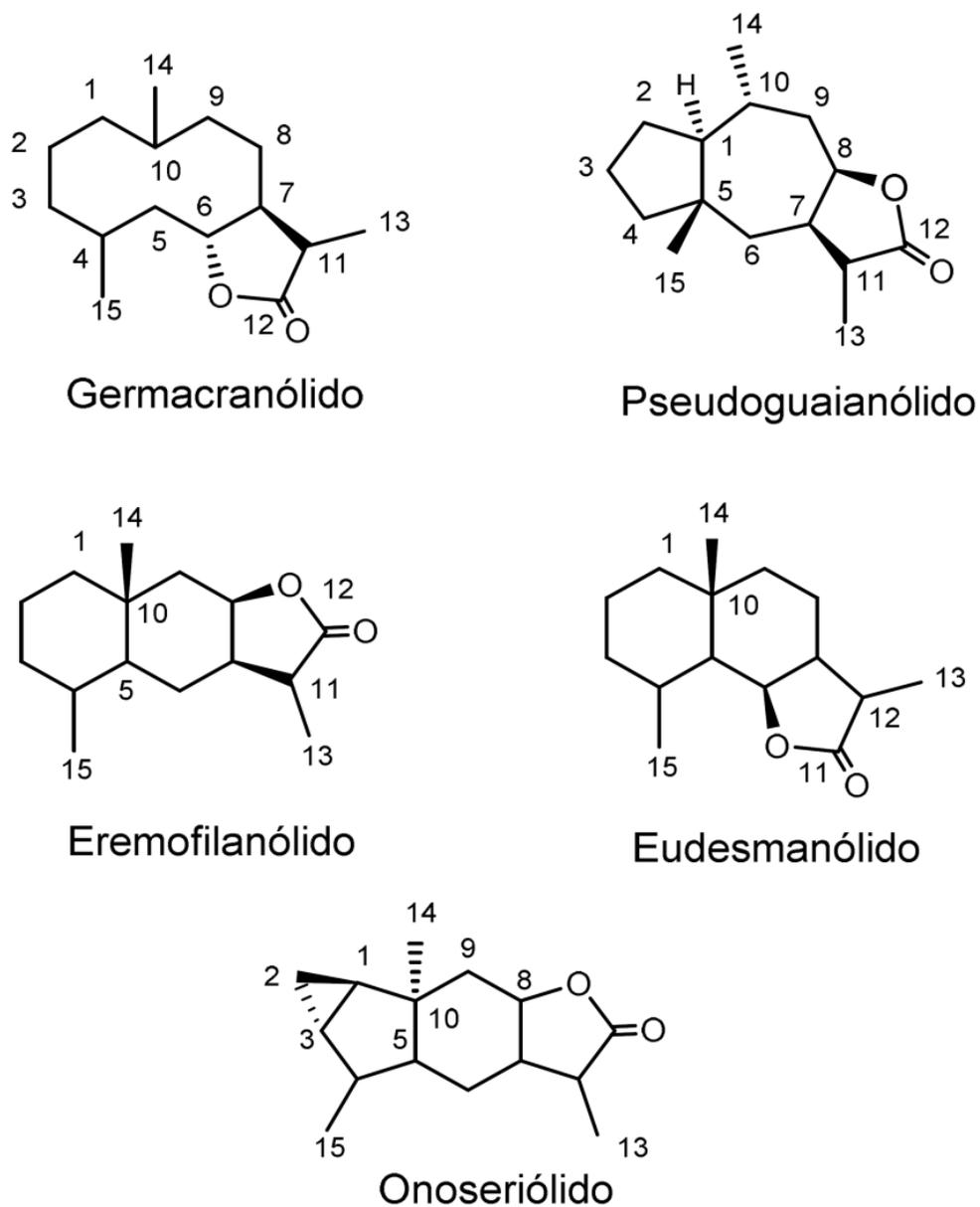


Figura.7. Estructuras y enumeración de los carbonos en seis núcleos de sesquiterpenlactonas

Fuente: Lock O.²⁹

Biosíntesis

Las sesquiterpenlactonas se originan a partir de farnesil difosfato, que por pérdida del OPP (grupo difosfato) se produciría el catión E, E-farnesilo y a partir de este se generarían posterior adición electrofílica el catión germacrilo y el humalilo, los cuales a través de adiciones electrofílicas y protonaciones de doble enlace, nos conducirían a los cationes guailo y eudesmilo. A partir del catión E, E-farnesilo y por medio del giro del enlace 3,4, se formaría el catión E, Z-farnesilo, el cual generaría a través

de una serie de reacciones de **adición** electrofílica y desplazamientos 1,3 de hidruro, cationes tales como el bisabólilo, *cis*-germacrilo, *cis*-humilo, etc. (Figura.8) ⁽⁵⁾.

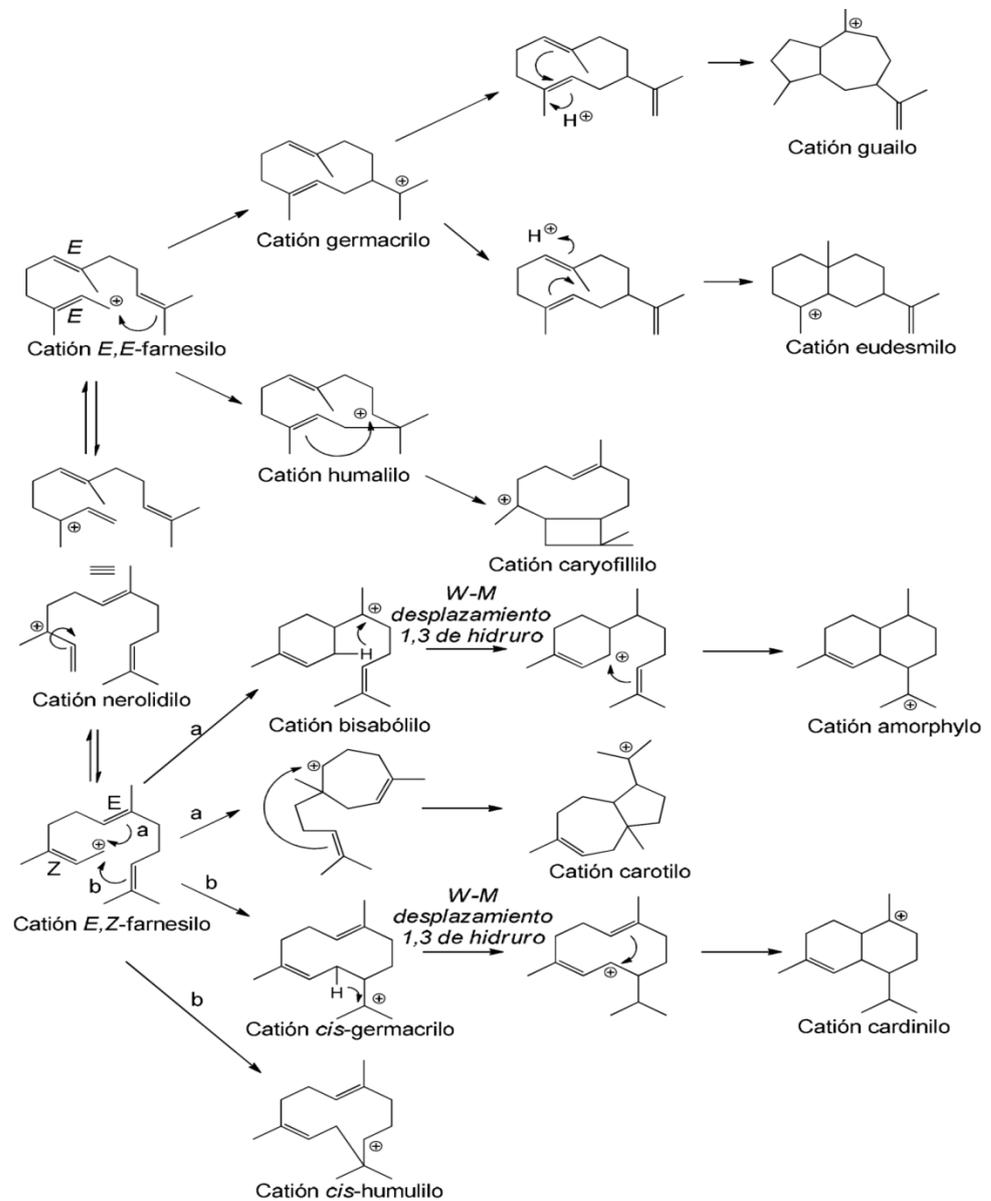


Figura.8. Biogénesis de los sesquiterpenos cíclicos, a partir del catión E, E farnesilo y E-Z-farnesilo.

Fuente: Soto, M.⁵

Se ha demostrado también que a partir del germacranólido por efecto de diferentes tipos de reacciones y modificación estructural se da origen a los diferentes esqueletos estructurales de las sesquiterpenlactonas (Figura. 9)

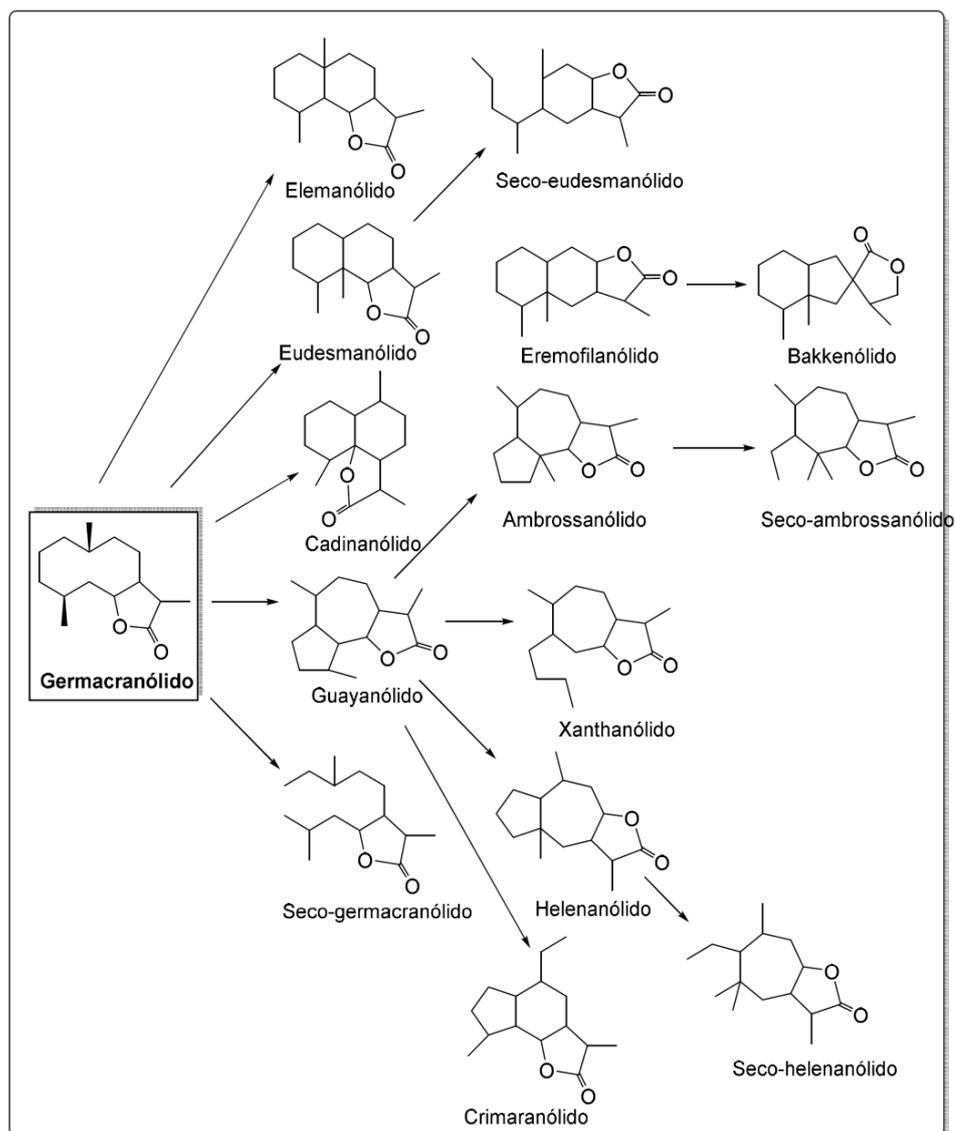


Figura. 9. Formación de diversos esqueletos sesquiterpenlactónicos a partir del esqueleto de germacranólido.

Fuente: Soto, M⁵

Una propuesta biogénica de formación del anillo lactónico, podría transcurrir a través del farnesil difosfato por pérdida del OPP, generándose el catión E, E farnesil difosfato. A partir de este y por medio de la pérdida de un protón se generaría el Germacrano A. Hidroxilación selectiva del C13 y posterior oxidación con NAD⁺ (dinucleotido de adenina nicotinamidas) nos producirá el ácido germacránico (Figura. 9), posterior Hidroxilación regio y estereo selectiva con NADPH (dinucleotido de adenina nicotinamida reductasa) en presencia de O₂ y esterificación intramolecular se generaría el (+)- Custunólido (5), ⁽¹⁸⁾.

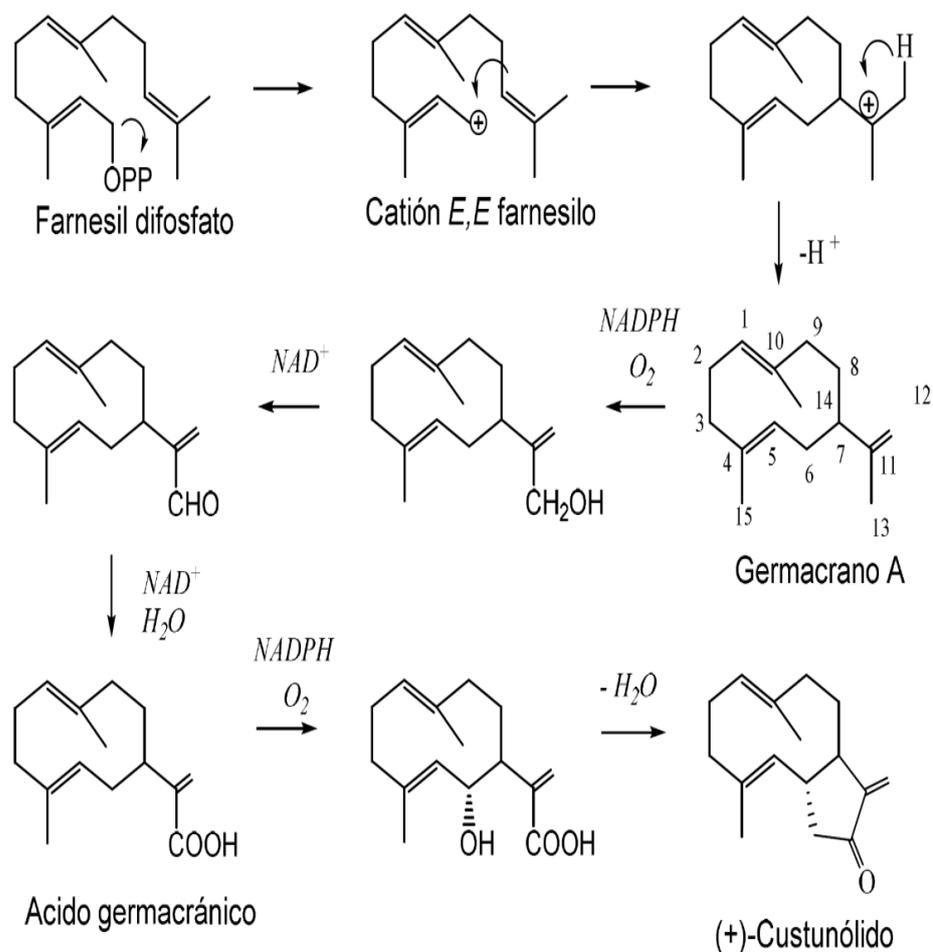


Figura 10. Biogénesis de formación del (+)-Custunólido.

Fuente: Nelson NA¹⁸

Extracción de lactonas sesquiterpénicas

Debido a que la gran mayoría de sesquiterpenlactonas naturales que se encuentran, están en forma libre, las propiedades de solubilidad características están relacionadas con la gran mayoría de terpenoides y por lo tanto son solubles en solventes relativamente apolares como cloroformo, diclorometano, benceno, éter etílico, etc.; siendo el cloroformo el más utilizado para su extracción. Entre los métodos más usados esta la maceración y extracción por Soxhlet, partiendo de la droga seca y molida.⁽⁷⁾

Identificación de lactonas sesquiterpénicas

Como todas las γ -lactonas son difíciles de saponificar, se recurre a la de hidroximatos férricos de color púrpura. Una gota de solución etanólico

o etérea del compuesto se coloca en un tubo de 4 x 50 mm o en un microcrisol, se añade una gota de solución metanólica 2N de hidróxido de potasio. La mezcla se calienta durante 1-2 min. En seguida se enfría, se acidula con ácido clorhídrico 0.5 N y se añade una gota de cloruro férrico 1%; se observa la coloración violácea. Las santoninas dan un color rosa violeta y la alantolactona violeta oscuro. Las cumarinas, otras lactonas y en general los ésteres, dan positiva esta prueba (29) - Las lactonas γ , β -insaturadas dan la prueba de legal con la evidencia de una coloración rosa, aunque también las β , γ -lactonas dan coloración si no se controla bien el pH, ya que estas se isomerizan en medio alcalino. Unos 2 mg de sustancia se disuelven en 2 a 3 gotas de piridina; en seguida se le añade una gota de una solución reciente de nitroprusiato de sodio 0.5% y después se le añade gota por gota, 4 gotas de hidróxido de potasio 2N y se observa una coloración roja oscura. - En la prueba de Baljet(29) se utilizan dos soluciones que se mezclan en iguales volúmenes antes de utilizarse. La solución A, contiene 1g de ácido pícrico en 100 mL de etanol y solución B, 10 g de hidróxido de sodio en 100 mL de agua. Para esta prueba se colocan 2-3 mg de compuesto y unas 3 a 4 gotas de reactivo, siendo positiva si se forma coloración anaranjada o roja oscura.

Lactonas sesquiterpénicas y salud

El interés en estas moléculas se justifica por las múltiples actividades biológicas que presentan, entre las que se destacan la actividad antineoplásica y citotóxica, ambas vinculadas a la función del agrupamiento α -metilén- γ -lactona, al parecer por ataque nucleofílico de determinados centros activos de las proteínas al doble enlace a través de una adición de Michael.⁽²⁷⁾ Así, los grupos tiol de la cisteína parecen ser las dianas primarias de las lactonas sesquiterpénicas, la cual da lugar a la inhibición de diversas funciones celulares que conducen a las células a la apoptosis.⁽³⁰⁾ En esencia, la interacción entre ellas y los grupos tiol de las proteínas dejan una reducción de la actividad enzimática o causan la interrupción del metabolismo, el cual es de vital importancia en el balance redox intracelular de la célula.

La relación entre la estructura química y la bioactividad de las lactonas sesquiterpénicas ha sido estudiada en varios sistemas, especialmente relacionándola con su actividad citotóxica,⁽³¹⁾ antiinflamatoria⁽³²⁾ y antitumoral.⁽³³⁾ También se han descrito otros tipos como antibacteriana, fungicida y fitotóxica.⁽³⁴⁾⁽²⁸⁾⁽³⁵⁾ Particularmente significativo resulta su papel determinante en las relaciones de la planta con su entorno (actividad alelopática).⁽²⁸⁾⁽³⁵⁾

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

3.1.1 Tipo de la investigación

Al manipular la variable independiente y medir su efecto sobre la variable dependiente, la investigación propuesta lleva a que el tipo de investigación realizada sea de carácter experimental. Del mismo modo debido al escaso precedente de referencia en investigación, sobre los efectos in vivo de las lactonas sesquiterpénicas sobre la inflamación, el presente estudio se realizó en condición de Investigación exploratoria.

Por lo tanto, la investigación es de tipo analítico, experimental, observacional, exploratorio y descriptivo.

3.1.2 Nivel de la investigación

La presente investigación según su propósito es una Investigación Aplicada, ya que se busca dar solución y explicación a un problema común como es la inflamación.

Según su enfoque la presente investigación es una Investigación Cuantitativa ya que se busca dar respuestas objetivas y puntuales del objeto de estudio.

Investigación Transversal; ya que el investigador planteo evaluar una única vez a cada unidad muestral, es decir se midió el peso de la inflamación por un único tratamiento utilizando la crema de lactonas sesquiterpénicas en un solo periodo de tiempo sobre la inflamación inducida en los ratones.

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación responde a un diseño experimental, debido a que fue posible el manejo de la Variable Independiente, la crema preparada a base de lactonas sesquiterpénicas la cual fue preparada por el investigador de acuerdo a las concentraciones requeridas, y la comprobación de su efecto antiinflamatorio.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 Población

- Se realizó el ensayo con semillas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte” existentes en la ciudad de Lima en el Distrito de Lurín (200 m.s.n.m.) del Departamento de Lima, Perú. En todos los casos debían tener un color uniforme y no presentar ningún tipo de contaminación.
- Se emplearon 56 ratones albinos de la cepa Balb/C53/CNPB de 20 - 30 g de peso corporal de ambos sexos, provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud en Chorrillos (INS).

Los animales fueron trasladados al laboratorio y recibieron 7 días de aclimatación con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con libre acceso a comida y agua.

3.3.2 Muestra

- Extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte” para la marcha fitoquímica.
- Formulación en crema a base lactonas sesquiterpénicas extraídas por Soxhlet empleando cloroformo como solvente para ser aplicada a 7 grupos de ratones distribuidos aleatoriamente con 8 animales cada grupo.

3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

3.4.1 Técnica

Análisis Fitoquímico: (Olga Lock Sing de Ugaz- 1998) Manual de libro análisis fitoquímico de Olga Lock de Ugaz.⁽²⁹⁾

Método de extracción: Método soxhlet:

Fundamento

Se basa en la extracción de grasa de la muestra mediante el tratamiento con el aparato de Soxhlet en el que se utiliza solventes no polares porque las grasas muestran tal afinidad que al disolverse se separan del resto de sus componentes.

Muchas veces, la extracción Soxhlet se usa como primer paso de una purificación o separación⁽⁴⁴⁾

Según las técnicas avanzadas de separación en química los métodos tradicionales de extracción sólido-líquido pueden dividirse en dos grandes grupos:⁽⁴⁴⁾

1. Métodos que necesitan un aporte de calor, Soxhlet. Soxtec ® System HT y extracción Soxhlet asistida por microondas.
2. Métodos que no requieren un aporte de calor: agitación con ultrasonidos y agitación simple ⁽⁴⁴⁾

Se conoce que la extracción Soxhlet ha sido el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde que fue inventado en el ciclo pasado, y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. Además de muchos métodos de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency) y de la FDA (Food and Drugs Administration) utilizan esta técnica clásica como método oficial para la extracción continua de sólidos ⁽⁴⁴⁾

Se debe considerar que la extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolvente.⁽⁴⁴⁾
- La extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple. Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet ⁽⁴⁴⁾

Estudio farmacológico: Método de edema auricular inducido por xilol:

Fundamento

Consiste en la inducción de la inflamación por la aplicación de xilol, principal responsable de la acción irritante, en el pabellón de la oreja del

ratón, la evaluación de la técnica está dada, por la medición de la respuesta inflamatoria que se traduce por el aumento de peso que se produce en el área lesionada.

Es un método utilizado para la inducción y medición de la inflamación en modelos biológicos murinos, para establecer un efecto antiinflamatorio de algún compuesto en investigación, es un modelo creado por De Young y Payá, el cual permite descartar las fracciones menos activas para orientar los recursos y esfuerzos hacia las fracciones más promisorias ⁽⁴⁵⁾ ⁽⁴⁶⁾

3.4.2 Instrumentos

Autoclave

Campana de extracción

Baño maría

Equipo extractor Soxhlet

3.5. MATERIALES Y REACTIVOS

Material biológico

- Ratones cepa BalB/C53/CNPB

Material vegetal

- Extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill*

Materiales para el estudio cualitativo

- Tubos de ensayo 13 x 10 mL.
- Gradilla de metal.
- Pipeta de 1, 2, 5 y 10 mL.
- Beacker 250 mL y 1L.
- Cocinilla eléctrica modelo: SB302 Stuart Equipment, serie: CB302.
- Propipeta de goma.
- Baqueta de vidrio.
- Espátula de metal.
- Probeta de 100 mL.
- Balanza analítica (Modelo: Sartorius; Serie: TE2145).

- Estufa (Modelo: Memmert).
- Campana extractora (Modelo: KtPeru; Serie: CL - 1000).

Materiales para el estudio farmacológico

- Balanza para pesar ratones.
- Jaulas de plástico para ratones.
- Placa petri de vidrio
- Sacabocado de 7 mm de diámetro.
- Balanza analítica (Modelo: Sartorius; Serie:TE2145)

3.6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Recolección de la muestra vegetal

Los frutos de *Persea americana* Mill se recolectaron en Lurín, se retiraron las semillas, éstas se lavaron con agua, luego se rociarán con alcohol 96° para su conservación, se secaron a temperatura ambiente y posteriormente se procedió a embalar en bolsas de papel kraft y en cajas de cartón debidamente rotulado.

Estabilización de la muestra vegetal

La muestra fue secada en estufa a 40 °C (para no alterar la naturaleza química de los metabolitos secundarios), hasta que la pepa desprenda las testas por sí sola.

Molienda de la muestra vegetal

Una vez estabilizado se procedió a la molienda, en molino de cuchillas. El polvo obtenido se almacenó en bolsas de papel kraft, debidamente rotuladas y selladas hasta su empleo.

Preparación del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”

Se pesaron 3,8 Kg de las testas molidas de *Persea americana* Mill. El extracto orgánico se obtuvo mediante el método Soxhlet empleando CHCl₃ como solvente. Se realizó la extracción por 8 horas para cada porción (50 g.) de muestra en polvo por el periodo de 8 días en dos equipos soxhlet. Posteriormente, se realizó la

concentración en evaporador rotatorio a 40 °C para eliminar el solvente y obtener un extracto seco. Finalmente, se coloca el extracto en un frasco pequeño color ámbar protegido de la luz y la humedad. Obteniéndose un rendimiento de extracto seco de 400 g.

Obtención de las lactonas sesquiterpénicas

El material seco y molido se extrae por medio del método Soxhlet, utilizando como solvente el cloroformo.

El extracto concentrado se redisuelve en etanol caliente y se añade solución acuosa de acetato de plomo al 5%, con lo cual se precipitan sustancias más polares.

Luego de filtrar, el filtrado se concentra y se somete a precipitación con Acetato de plomo al 5%.



A: precipitación con acetato de plomo



B: Filtrado

Figura 12. Marcha de Clark

Prueba de solubilidad

Esta prueba se realizó en 11 tubos de ensayo y a cada uno se le agregó 20 mg del extracto de las testas de *Persea americana Mill* y se añadió ensayo a cada uno 1 mL de disolvente de diferente polaridad (agua destilada, etanol, metanol, butanol, acetato de etilo, n-hexano, cloroformo, acetona, benceno, éter de petróleo, éter etílico)

Análisis cualitativo

Se pesó 20 mg del extracto seco de las testas de *Persea americana Mill*, se solubilizó en solvente metanol. Se colocó 1mL del extracto y se adiciono las gotas de reactivo, para la identificación de metabolitos primarios y secundarios por reacciones de coloración y precipitación

Formulación de la crema

- 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 %
- Extracto seco de *Persea americana Mill* al 1%, 5%,10%,20%.

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 500 mL y en otro Beacker el alcohol cetílico, alcohol cetoesteárico, se mezcló ambas preparaciones 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.

Tabla1.-Preparación de las cremas farmacéuticas: a la crema base se le adiciono un peso equivalente del extracto de *Persea americana Mill* para obtener concentraciones de 1%, 5%,10%,20%.

Composición	CONCENTRACION (P/P%)				
	Crema base	1%	5%	10%	20%
alcohol cetílico	4%	4%	4%	4%	4%
Ácido esteárico	2%	2%	2%	2%	2%
Alcohol cetoesteárico	6%	6%	6%	6%	6%
Vaselina líquida	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
Glicerina	4%	4%	4%	4%	4%
Agua destilada	82.50%	81.50%	77.5%	72.50%	62.50%
extracto de las testas de <i>Persea americana Mill</i>	...	1	5	10	20

Análisis farmacológico de la actividad antiinflamatoria

Se emplearon 56 ratones albinos Balb/C53/CNPB de 20 - 30 g de peso corporal de ambos sexos, provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud en Chorrillos (INS).

Los animales fueron trasladados al laboratorio y recibieron 7 días de aclimatación con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con libre acceso a comida y agua.

Se utilizó el método de edema auricular inducido por xilol. Esta técnica consistió en la inducción de la inflamación por la aplicación de xilol 40 µL/oreja vía tópica, agente irritante que produce un daño neuronocectivo en el pabellón de la oreja del ratón. La respuesta edematosa se determinó por el aumento de peso en el área lesionada por el agente químico.⁽³⁶⁾

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en grupos de 8 animales cada uno. A los ratones se les retiró el alimento 12 horas antes de iniciar el ensayo, pero con libre acceso al agua, empleando la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio.

Grupos experimentales:

- 1) **Grupo 1:** Control: Crema base
- 2) **Grupo 2:** Extracto seco CHCl₃ 1% en crema.
- 3) **Grupo 3:** Extracto seco CHCl₃ 5% en crema
- 4) **Grupo 4:** Extracto seco CHCl₃ 10% en crema.
- 5) **Grupo 5:** Extracto seco CHCl₃ 20% en crema.
- 6) **Grupo 6:** Diclofenaco 1% en gel.
- 7) **Grupo 7:** Hidrocortisona 1% en crema.

FUNDAMENTO:

Hidrocortisona

La hidrocortisona contrae los capilares en la dermis superficial, disminuyendo el eritema. Este efecto vasoconstrictor se relaciona con su potencia antiinflamatoria y su efecto proliferativo. Se fundamenta en la producción del propio ácido araquidónico, es decir, actúan a un nivel superior del metabolismo del ácido araquidónico al que lo hacen los AINES, por lo tanto disminuyen la producción de Prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos. A consecuencia de ello reducen las

manifestaciones iniciales, como la vasodilatación y la activación de los mediadores de la inflamación. ⁽⁴⁴⁾

Diclofenaco

Inhibe la migración de los leucocitos al sitio de la inflamación y altera los procesos celulares e inmunológicos en los tejidos mesenquimatosos y conectivo, acción que contribuye al efecto inflamatorio. Interfieren en la producción de prostaglandinas y tromboxano mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. ⁽⁴⁵⁾

Tabla 2: Tabla Procedimiento de la inducción de la inflamación con el xilol y tratamiento con las cremas preparadas con el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill* “Palta Fuerte” de diferentes concentraciones (1%, 5%, 10% y 20%).

PROCEDIMIENTO DE LA INFLAMACION EN OREJA DE RATON			
GRUPOS	INICIO OREJA DERECHA	DESPUES DE 30 MINUTOS OREJA DERECHA	INICIO OREJA IZQUIERDA
Grupo 1- control	Crema base	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 2	Crema al 1 %	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 3	Crema al 5 %	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 4	Crema al 10 %	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 5	Crema al 20 %	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 6	Diclofenaco gel 1 %	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)
Grupo 7	Hidrocortisona crema al 1%	Xilol (40 uL)	Xilol (40 uL)

Procedimiento:

Las orejas derechas recibieron tratamiento con las cremas preparadas con el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill* “Palta Fuerte” de diferentes concentraciones (1%, 5%, 10% y 20%), un antiinflamatorio como Diclofenaco en gel al 1% y un glucocorticoide como Hidrocortisona pomada al 1%, menos el grupo control que recibió sólo la crema base.

Después de 30 minutos después de haber recibido el tratamiento las orejas derechas recibieron el agente irritante Xilol, 40 µL/oreja, en la parte anterior y posterior del pabellón.

Quince minutos después de la aplicación de la administración del xilol, los animales fueron eutanizados. Luego, con un sacabocado de 7mm de diámetro se procedió a cortar una porción del centro de ambas orejas y se colocó en una luna de

reloj para proceder a pesarlas por separado (oreja derecha y oreja izquierda). Se registraron los pesos. La actividad antiinflamatoria se determinó por la medición de la respuesta inflamatoria que se traduce por el aumento de peso.

La actividad antiinflamatoria se expresó como porcentaje de inhibición del edema calculado, con la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición de edema} = \left[1 - \frac{\Delta Et}{\Delta Ec} \right] * 100$$

Delta de peso (mg)

ΔEt = peso promedio de los edemas en la muestra tratada

ΔEc = peso promedio del edema en el grupo control

Tabla 03: Grupos a recibir tratamiento

	Oreja Derecha	Oreja izquierda
Grupo control	Crema base	Xylol
Grupos problema	Xylol + Ms	Xylol

Tabla 04: Grupo control

Control	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 1	13.14	25.77	12.63	0.00
Ratón 2	12.24	25.09	12.85	0.00
Ratón 3	12.15	26.50	14.35	0.00
Ratón 4	12.90	25.10	12.2	0.00
Ratón 5	12.83	25.49	12.66	0.00
Ratón 6	12.97	26.75	13.78	0.00
Ratón 7	12.82	25.16	12.34	0.00
Ratón 8	12.55	26.05	13.5	0.00
Promedio	12.70	25.74	13.04	0.00

Tabla 05: Grupo problema – crema al 1% del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte”

Crema al 1 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 9	12.59	20.33	7.74	40.64
Ratón 10	12.19	19.51	7.32	43.86
Ratón 11	12.40	20.47	8.07	38.11
Ratón 12	13.07	20.03	6.96	46.62
Ratón 13	12.76	20.01	7.25	44.40
Ratón 14	13.17	20.22	7.05	45.93
Ratón 15	13.36	20.45	7.09	45.62
Ratón 16	13.35	19.27	5.92	54.60
Promedio	12.86	20.04	7.18	44.97

Tabla 06: Grupo problema – crema al 5% del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte”

Crema al 5 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 17	12.95	18.10	5.15	60.50
Ratón 18	13.08	18.02	4.94	62.11
Ratón 19	12.90	17.70	4.8	63.19
Ratón 20	12.57	18.19	5.62	56.90
Ratón 21	12.43	18.14	5.71	56.21
Ratón 22	12.11	17.60	5.49	57.89
Ratón 23	13.35	18.11	4.76	63.49
Ratón 24	13.35	18.40	5.05	61.27
Promedio	12.84	18.03	5.19	60.20

Tabla 07: Grupo problema – crema al 10% del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte”

Crema al 10 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 25	12.73	17.52	4.79	63.26
Ratón 26	12.90	17.88	4.98	61.81
Ratón 27	12.01	18.15	6.14	52.91
Ratón 28	12.72	17.54	4.82	63.03
Ratón 29	13.39	17.62	4.23	67.56
Ratón 30	13.08	18.37	5.29	59.43
Ratón 31	12.51	17.71	5.20	60.12
Ratón 32	12.72	17.95	5.23	59.89
Promedio	12.76	17.84	5.09	61.00

Tabla 08: Grupo problema – crema al 20% del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte”

Crema al 20 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 33	12.51	17.16	4.65	64.34
Ratón 34	12.60	17.59	4.99	61.73
Ratón 35	13.38	16.64	3.26	75.00
Ratón 36	12.74	17.31	4.57	64.95
Ratón 37	12.81	17.16	4.35	66.64
Ratón 38	12.29	17.45	5.16	60.43
Ratón 39	13.49	16.81	3.32	74.54
Ratón 40	13.16	16.65	3.49	73.23
Promedio	12.87	17.10	4.22	67.61

Tabla 09: Grupo problema – Diclofenaco gel al 1 %

Diclofenaco gel al 1 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 41	13.15	17.12	3.97	69.55
Ratón 42	12.37	17.26	4.89	62.50
Ratón 43	12.04	17.31	5.27	59.58
Ratón 44	12.71	17.57	4.86	62.73
Ratón 45	12.74	16.9	4.16	68.10
Ratón 46	12.28	17.39	5.11	60.81
Ratón 47	12.51	17.88	5.37	58.82
Ratón 48	13.15	16.74	3.59	72.47
Promedio	12.62	17.27	4.65	64.32

Tabla 10: Grupo problema – Hidrocortisona crema al 1 %

Hidrocortisona crema al 1 %	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Ratón 49	12.67	15.17	2.50	80.83
Ratón 50	13.37	14.57	1.20	90.80
Ratón 51	12.39	16.12	3.73	71.39
Ratón 52	12.52	15.2	2.68	79.45
Ratón 53	12.07	15.06	2.99	77.07
Ratón 54	13.42	14.28	0.86	93.40
Ratón 55	13.03	15.31	2.28	82.51
Ratón 56	13.3	16.15	2.85	78.14
Promedio	12.85	15.23	2.39	81.70

3.7. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DE ANÁLISIS DE DATOS

En la presente investigación para contrastar la hipótesis se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor que permite comprobar la variación que existe entre los grupos (intergrupos) y dentro de los grupos (intragrupos); haciendo uso del Software IBM SPSS Statistics 22, en español, empleando como sistema operativo Windows 7, para determinar si existía diferencia significativa, en el estudio de la actividad antiinflamatoria de una crema formulada a base fracción p del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill.

También se realizó el Test HSD (Honestly-significant-difference) de Tukey, que es un test de comparaciones múltiples. Permite comparar las medias de los niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Es, por lo tanto, un test que trata de perfilar, trata de especificar, una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los Test ANOVA.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Prueba de solubilidad de la fracción polar del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”.

Tabla 11: Solubilidad del extracto clorofórmico de las semillas

Solvente	Abreviatura	Solubilidad
Agua destilada	H ₂ O (d)	-
Etanol	EtOH	+
Metanol	MeOH	+
Butanol	BuOH	-
Acetato de etilo	EtOAc	-
n-hexano	n-hex	-
Cloroformo	CHCl ₃	+
Acetona	Me ₂ CO	-
Benceno	Bz	-
Éter de petróleo	EP	-
Éter etílico	Et ₂ O	-

Leyenda: (+) = soluble; (-) = insoluble

Análisis Cualitativo del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”.

Tabla 12: Resultados del análisis cualitativo del extracto clorofórmico

Reactivos	Metabolitos secundarios	Resultado
Tricloruro de aluminio	Flavonoides	+
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
Gelatina/ NaOH1%	Taninos	+
Tollens	Lactonas	-
Legal	Lactonas sesquiterpénicas	+
Baljet	Lactonas sesquiterpénicas	+
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	+
Popoff	Alcaloides	+
Sonneschein	Alcaloides	+
Wagner	Alcaloides	+
Bertrand	Alcaloides	+
Shinoda	Flavonoides	-

Leyenda: (+) = presente; (-) = ausente

Análisis Cualitativo del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”.

Formulación de la crema

Tabla 13: Características de la crema

Parámetro	Especificación
Aspecto	Emulsión untuosa y sin burbujas ni impurezas visibles
Color	Almendra claro
Olor	Característico del extracto
Viscosidad	25 000 – 35 000cps
Concentración del extracto	1%, 5% , 10%, 20 %

Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Tabla 14: Porcentaje de inhibición de la inflamación de las orejas de los ratones tratados.

Grupo de estudio	Peso de oreja derecha(mg)	Peso de oreja izquierda(mg)	Porcentaje de inhibición.
Grupo control	12.70	25.74	0.00
Ext – CHCl ₃ al 1% en crema	12.86	20.04	44.94
Ext – CHCl ₃ al 5% en crema	12.84	18.03	60.20
Ext – CHCl ₃ al 10% en crema	12.76	17.84	61.04
Ext – CHCl ₃ al 20% en crema	12.87	17.10	67.56
Diclofenaco 1% en gel	12.62	17.27	64.34
Hidrocortisona1% en pomada	12.85	15.23	81.75

Fuente: Datos obtenidos por las autoras

Actividad Antiinflamatoria

Tabla 15: Porcentajes de inhibición de los promedios de los diferentes grupos tratados con las cremas formuladas con la fracción polar del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”

Grupo experimental	Oreja Derecha peso (mg)	Oreja Izquierda peso (mg)	Diferencia	% de inhibición
Control	12.70	25.74	13.04 ± 0.76	0.00
Crema al 1 %	12.86	20.04	7.18 ± 0.63	44.94
Crema al 5 %	12.84	18.03	5.19 ± 0.37	60.20
Crema al 10 %	12.76	17.84	5.08 ± 0.55	61.04
Crema al 20 %	12.87	17.10	4.23 ± 0.76	67.56
Diclofenaco gel 1 %	12.62	17.27	4.65 ± 0.66	64.34
Hidrocortisona pomada 1 %	12.85	15.23	2.38 ± 0.94	81.75

Test de ANOVA para la Actividad Antiinflamatoria

Tabla 16: Comparación de la respuesta antiinflamatoria de las cremas formuladas con la fracción polar del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte” a diferentes concentraciones comparadas con Diclofenaco en gel al 1% e Hidrocortisona en pomada al 1%

ANOVA Inhibición					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	33146.546	6	5524.424	239.898	1.5 x 10 ⁻³⁴
Dentro de grupos	1128.381	49	23.028		
Total	34274.927	55			

Tabla 17: Test HSD de Tukey de las comparaciones múltiples

GRUPOS (I.C. al 95%)		D.M. (I-J)	E.E.	SIG.	L.I.	L.S.
Control	Crema 1%	-44,97250*	2.40	6.32E-13	-52.35	-37.60
	Crema 5%	-60,19500*	2.40	6.32E-13	-67.57	-52.82
	Crema 10%	-61,00125*	2.40	6.32E-13	-68.38	-53.63
	Crema 20 %	-67,60750*	2.40	6.32E-13	-74.98	-60.23
	Diclofenaco 1%	-64,32000*	2.40	6.32E-13	-71.70	-56.94
	Hidrocortisona 1%	-81,69875*	2.40	6.32E-13	-89.07	-74.32
Crema 1%	Control	44,97250*	2.40	6.32E-13	37.60	52.35
	Crema 5%	-15,22250*	2.40	1.40E-06	-22.60	-7.85
	Crema 10%	-16,02875*	2.40	4.24E-07	-23.40	-8.65
	Crema 20 %	-22,63500*	2.40	2.86E-11	-30.01	-15.26
	Diclofenaco 1%	-19,34750*	2.40	3.16E-09	-26.72	-11.97
	Hidrocortisona 1%	-36,72625*	2.40	6.32E-13	-44.10	-29.35
Crema 5%	Control	60,19500*	2.40	6.32E-13	52.82	67.57
	Crema 1%	15,22250*	2.40	1.40E-06	7.85	22.60
	Crema 10%	-0.80625	2.40	1.00E+00	-8.18	6.57
	Crema 20 %	-7,41250*	2.40	4.81E-02	-14.79	-0.04
	Diclofenaco 1%	-4.12500	2.40	6.07E-01	-11.50	3.25
	Hidrocortisona 1%	-21,50375*	2.40	1.40E-10	-28.88	-14.13
Crema 10%	Control	61,00125*	2.40	6.32E-13	53.63	68.38
	Crema 1%	16,02875*	2.40	4.24E-07	8.65	23.40
	Crema 5%	0.80625	2.40	1.00E+00	-6.57	8.18
	Crema 20 %	-6.60625	2.40	1.07E-01	-13.98	0.77
	Diclofenaco 1%	-3.31875	2.40	8.08E-01	-10.69	4.06
	Hidrocortisona 1%	-20,69750*	2.40	4.45E-10	-28.07	-13.32
Crema 20 %	Control	67,60750*	2.40	6.32E-13	60.23	74.98
	Crema 1%	22,63500*	2.40	2.86E-11	15.26	30.01
	Crema 5%	7,41250*	2.40	4.81E-02	0.04	14.79
	Crema 10%	6.60625	2.40	1.07E-01	-0.77	13.98
	Diclofenaco 1%	3.28750	2.40	8.15E-01	-4.09	10.66
	Hidrocortisona 1%	-14,09125*	2.40	7.37E-06	-21.47	-6.72
Diclofenaco 1%	Control	64,32000*	2.40	6.32E-13	56.94	71.70
	Crema 1%	19,34750*	2.40	3.16E-09	11.97	26.72
	Crema 5%	4.12500	2.40	6.07E-01	-3.25	11.50
	Crema 10%	3.31875	2.40	8.08E-01	-4.06	10.69
	Crema 20 %	-3.28750	2.40	8.15E-01	-10.66	4.09
	Hidrocortisona 1%	-17,37875*	2.40	5.74E-08	-24.75	-10.00
Hidrocortisona 1%	Control	81,69875*	2.40	6.32E-13	74.32	89.07
	Crema 1%	36,72625*	2.40	6.32E-13	29.35	44.10
	Crema 5%	21,50375*	2.40	1.40E-10	14.13	28.88
	Crema 10%	20,69750*	2.40	4.45E-10	13.32	28.07
	Crema 20 %	14,09125*	2.40	7.37E-06	6.72	21.47
	Diclofenaco 1%	17,37875*	2.40	5.74E-08	10.00	24.75

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Leyenda: D.M. (I-J) =Diferencia de medias (I-J); E.E.=error estándar; Sig. =Significancia estadística; I.C. 95%= intervalo de confianza al 95%.; L.I.=límite inferior; L.S.=límite superior

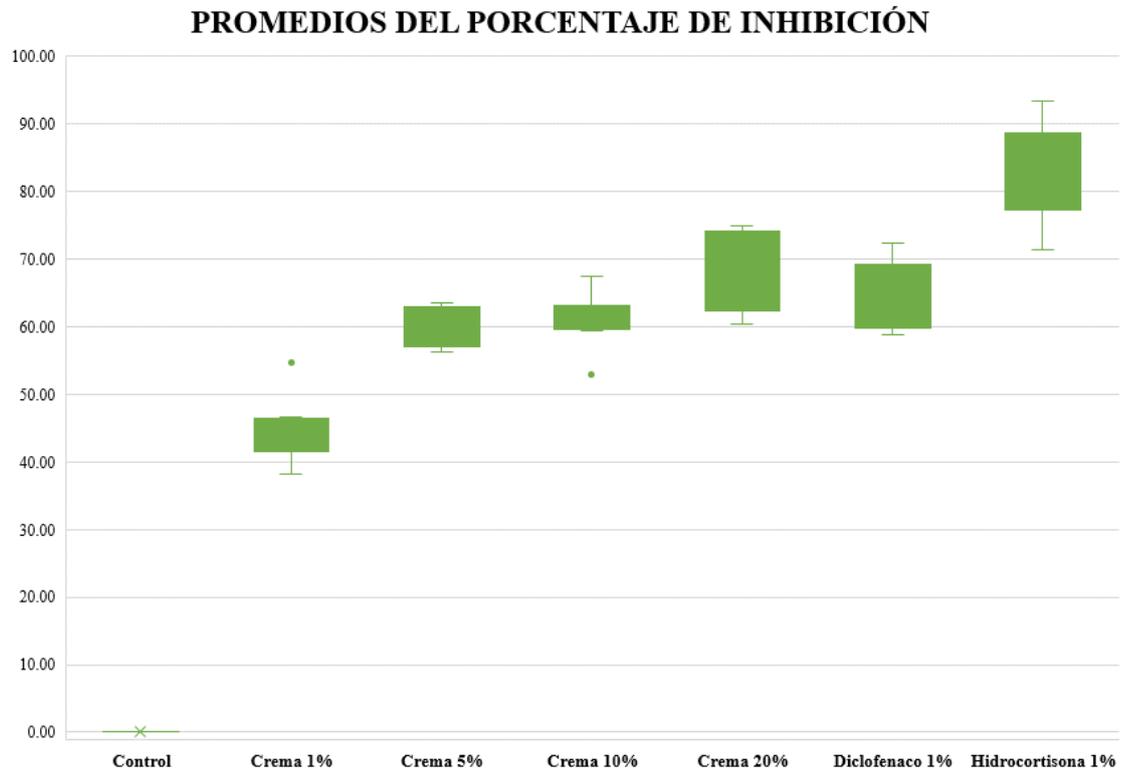


Figura 13. Test HSD de Tukey de todos los grupos

En la figura 13 podemos observar que las cremas al 1%, 5%, 10%, 20% a base de la fracción polar del extracto clorofórmico inhibieron la inflamación del pabellón auricular (oreja derecha), en un 44,94%; 60,20%; 61,04%, 67,56; respectivamente. Los fármacos antiinflamatorios (Diclofenaco al 1% en gel e Hidrocortisona al 1% en pomada) indujeron una inhibición de la inflamación 64,34% y 81,75%, respectivamente.

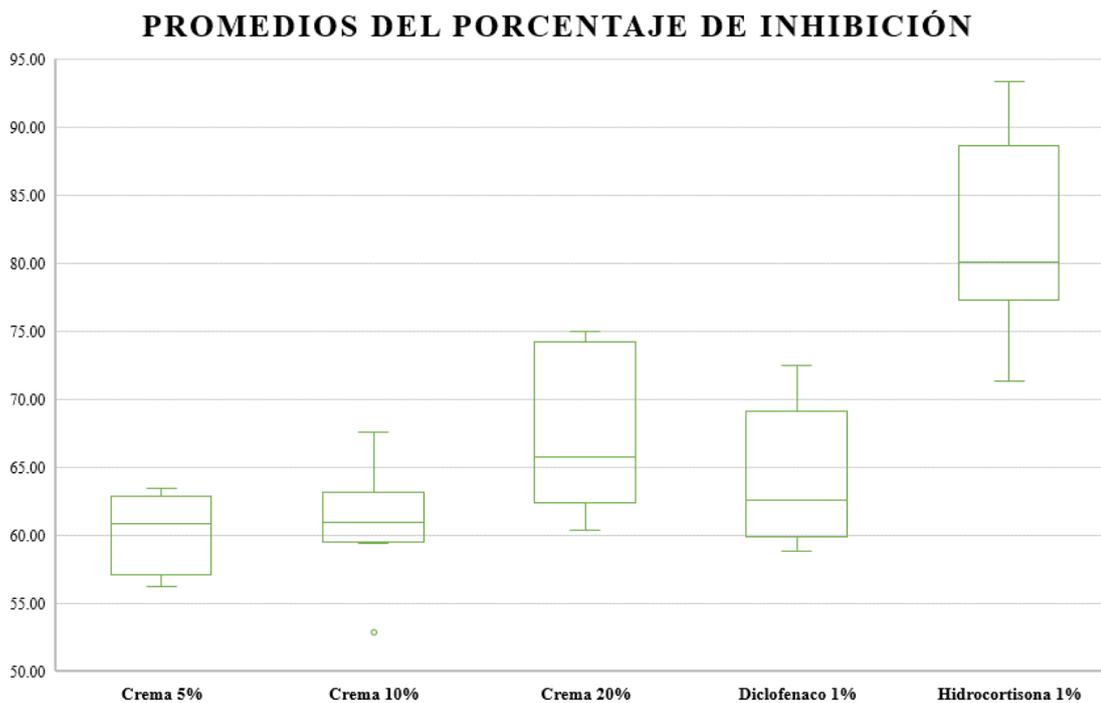


Figura 14. Test HSD de Tukey de grupos con % de inhibición superior al 60 %

De la figura 14 podemos observar que la crema al 5%, 10%, 20% a base de la fracción polar del extracto clorofórmico inhibieron la inflamación del pabellón auricular (oreja derecha), en un 60,20%; 61,04%, 67.56; respectivamente. Los fármacos antiinflamatorios (Diclofenaco al 1% en gel e Hidrocortisona al 1% en pomada) indujeron una inhibición de la inflamación 64,34% y 81, 75%, respectivamente.

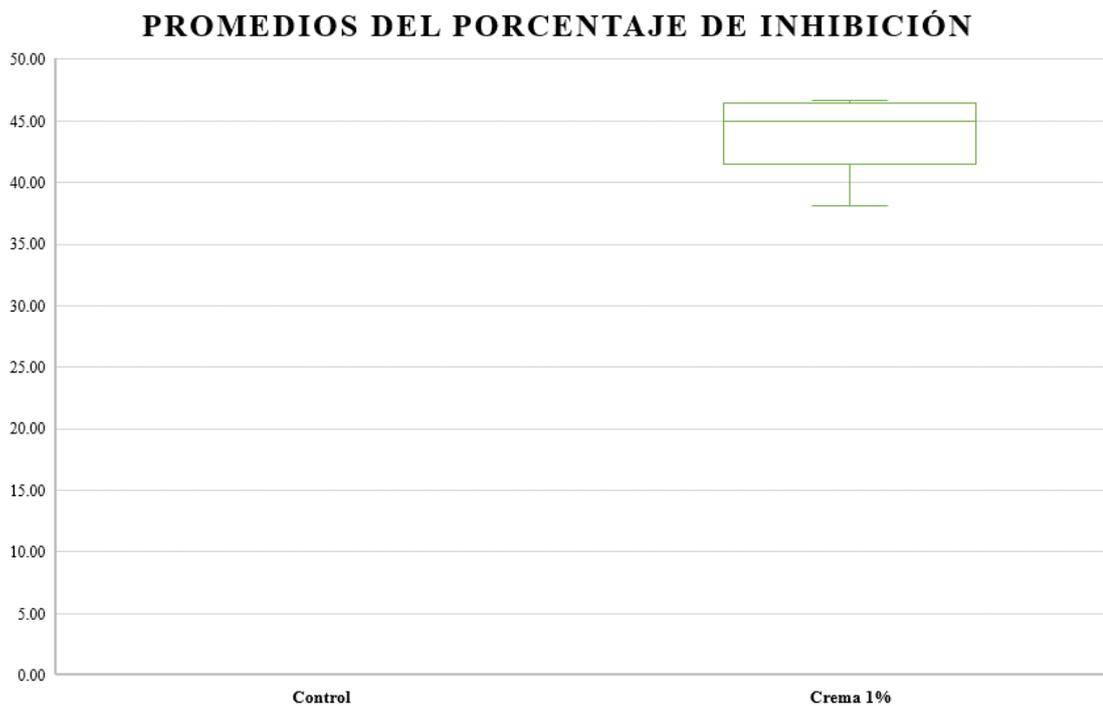


Figura 15. Test HSD de Tukey de grupos con % de inhibición inferior al 60

En la figura 15 podemos observar que la crema al 1% del extracto clorofórmico obtuvo una inhibición del 44,94%.

4.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este estudio de investigación se evaluó la actividad antiinflamatoria de la crema del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”, en una formulación en crema a distintas concentraciones en ratones por el modelo de edema auricular inducido por xilol, para validar el uso de esta especie en la medicina popular.

El extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte” fue soluble en solventes polares como metanol, etanol, e insoluble en solventes apolares como se observa en la Tabla 11. Esta solubilidad permitió la disolución de los principios activos en solventes polares, según Olga Lock de Ugaz O. en su libro análisis fitoquímica.⁽²⁹⁾⁽³⁷⁾

El análisis cualitativo del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”, confirma la presencia de metabolitos secundarios: Flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides y lactonas sesquiterpénicas según se muestra en la Tabla 12 mediante ensayos de precipitación y coloración como se describe en el libro análisis fitoquímica de Olga Lock de Ugaz.⁽²⁹⁾ Así, el análisis cualitativo revela la existencia de metabolitos secundarios confirmando su presencia en estudios realizados por Macías Villamizar en su estudio “Actividad biológica (farmacológica) y/o etnomédica; y compuestos fitoquímicos aislados de algunas especies de los géneros: *Persea*, *Laurus*, *Lindera*, *Aniba*, *Phoebe*, *Nectandra*, *Cassytha*, *Cinnamon*, *Licaria*, *Ravensara*, *Pleurothyrium*, *Dehaasia*, *Apollonias*, y *Neolitsea* (*Lauraceae*)” y Rodríguez-Sánchez *et al.* en su trabajo” Aislamiento y elucidación estructural de los derivados lipídicos que inhiben la endospora germinal de *Clostridium porogenes* de las semillas de *Persea americana*; donde la especie Palta fuerte presentó esteroides, fenoles, flavonoides, bases cuaternarias, triterpenos, etc.⁽³⁸⁾⁽²⁴⁾

En este estudio también se realizó el análisis cualitativo del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte”, confirma la presencia de las **lactonas sesquiterpénicas** según se muestra en la Tabla 12 mediante ensayos de precipitación y/o coloración como se describe en el libro análisis fitoquímica de Olga Lock de Ugaz.⁽²⁹⁾

Se debe señalar que la presencia de lactonas sesquiterpénicas en el análisis cualitativo de la especie vegetal *Persea* ya había sido reportada en lactonas sesquiterpénicas contribuyen con el efecto antiinflamatorio debido a que las

sesquiterpenlactonas han demostrado que efectivamente desacoplan la fosforilación oxidativa de neutrófilos polimorfo nucleares humanos y elevados niveles del monofosfato de adenosina cíclico el estudio realizado por Fraga⁽³⁹⁾ y se sabe por estudio de Hall *et al.*, que las de neutrófilos de ratas y células de hígado de rata y ratón. Se han hecho pruebas en las que se ha estimulado la actividad enzimática lisosomal libre y total por estos agentes en rata e hígado de rata y neutrófilos humanos. Además, las relaciones estructura-actividad para la estabilización de la membrana lisosómica para la actividad de catepsina en el hígado de rata siguieron los mismos requisitos estructurales necesarios para la actividad inflamatoria. La quimiotaxis de neutrófilos polimorfo nucleares humanos se inhibe a baja concentración, mientras que frente a la prostaglandina sintetasa, la actividad se inhibió a concentraciones más altas de lactonas sesquiterpénicas.⁽⁴⁰⁾ Validando su actividad antiinflamatoria en ratas y ratones.

El modelo de edema auricular inducido por Xileno en ratones es un modelo de inflamación aguda preliminar y simple para la evaluación de agentes antiinflamatorios potenciales.⁽⁴⁰⁾ El edema auricular puede promover mediadores inflamatorios como la histamina, cininas, fibrinolisina, fosfolipasa A2, entre otros. Estos mediadores inducen el edema mediante la promoción de la vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular.⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾

Para desarrollar la investigación se prepararon cremas a base del extracto clorofórmico a diferentes concentraciones (1, 5, 10, 20 %), siendo capaz de reducir la inflamación causada por el xilol, mejorando la permeabilidad vascular. La inflamación está dada por la primera fase, donde implica la liberación de histamina y serotonina; la segunda fase está creada por quinina y la tercera fase está mediada por la prostaglandina.⁽⁴²⁾

Los resultados de este estudio sugieren que el extracto clorofórmico probablemente actúa mediante la inhibición de la liberación o acción de la histamina, la serotonina y la quinina y las prostaglandinas desarrollado en el edema. Se sabe que los procesos inflamatorios agudos aumentan la permeabilidad vascular e inducen la migración de leucocitos y la actividad reactivas: Peróxido de hidrogeno (H_2O_2), anión superóxido (O_2^-) e hidroxilo (OH^-).⁽¹⁵⁾⁽²⁶⁾

En la actividad antiinflamatoria, se mostró un efecto eficaz de la crema formulada a base del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte “en un modelo de inflamación local inducida por xilol en el pabellón

auricular del ratón. Los resultados obtenidos del modelo de inflamación inducida por xilol, indicaron que las cremas al 1%, 5%, 10%, 20% a base de la fracción polar del extracto clorofórmico previnieron la inflamación del pabellón auricular (oreja derecha), en un 44,94%; 60,20%; 61,04%, 67,56; respectivamente. Los fármacos antiinflamatorios (Diclofenaco al 1% en gel e Hidrocortisona al 1% en pomada) indujeron una inhibición de la inflamación 64,34% y 81,75%, respectivamente. Comparando los porcentajes de inhibición de la inflamación se muestra una similitud significativa entre el tratamiento con la crema al 5 y 10% a base de la fracción polar del extracto clorofórmico, además hay una mayor actividad de la crema al 20% frente al Diclofenaco al 1% en gel. Por lo que se demuestra la actividad antiinflamatoria de las testas de *Persea americana* Mill. “Palta fuerte”.

Para evaluar la actividad antiinflamatoria una de las pruebas más utilizadas es el modelo de edema auricular inducido por ésteres de forbol como el 12-O-tetradecanoylforbol-13-acetato (TPA). Sin embargo, en este estudio se realizó la prueba de edema auricular inducido por xilol, porque ha demostrado tener menor toxicidad, menor costo, y porque este solvente induce edema y permeabilidad vascular, que se evidencia en un proceso inflamatorio agudo. Además, al aplicar el xileno después de 15 minutos se observa el edema.⁽¹⁶⁾

El xileno provoca la liberación de mediadores pro-inflamatorios de las neuronas sensoriales que actúan sobre las células dianas periféricas, como los mastocitos y otras células del sistema inmune, provocando una inflamación neurogénica caracterizada por calor, enrojecimiento y edema. Los resultados de este trabajo indicaron que la administración tópica de crema a base del extracto clorofórmico al 1, 5, 10 y 20% disminuyeron la formación del edema, esto se puede deber a que las lactonas sesquiterpénicas presentes en las semillas de *Persea americana* Mill “Palta fuerte” puedan estar bloqueando los mediadores de la inflamación como la fosfolipasa, COX-2, histaminas o bloqueando proteínas del complemento, evitando con ello la infiltración celular. Los antiinflamatorios AINES (diclofenaco) regulan la modulación de prostaglandinas (PG), y son usados para tratar el dolor agudo e inflamación crónica de la osteoartritis (OA) y medicamento de primera línea en la artritis reumatoide (AR).⁽⁴³⁾

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Se logró elaborar el extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill.* Mediante el método Soxhlet empleando cloroformo como solvente extractante, una metodología ampliamente usada en la extracción de compuestos caracterizada por el bajo consumo de solventes.
2. Se identificaron Las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill* empleando las pruebas de coloración.
3. Las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de *Persea americana Mill* fueron extraídas empleando las pruebas de precipitación con acetato de plomo al 5%.
4. Se evaluó el efecto antiinflamatorio en formulación de 1, 5, 10 y 20 % empleando como medicamentos de referencia el Diclofenaco en gel al 1% y la hidrocortisona en crema al 1%.
5. La crema al 20% de lactonas sesquiterpénicas de *Persea americana Mill* presentó un 67.56 % de inhibición lo que supera al Diclofenaco que obtuvo un 64.34 % pero no alcanza la actividad de la Hidrocortisona con un 81.75% mientras que el 5 y al 10% presentaron similitud con una inhibición de la inflamación de 60.20 y 61.04 % respectivamente.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a las entidades de salud como el MINSA realizar más estudios sobre efecto antiinflamatorio de las testas de *Persea americana* Mill utilizando otros métodos de extracción de principios activos, otros modelos experimentales y así corroborar el efecto encontrado en el presente estudio.
2. Se sugiere complementar la técnica cromatografía para la purificación de las lactonas sesquiterpénicas.
3. Se recomienda a los profesionales Químicos farmacéuticos elaborar la forma farmacéutica en crema a base lactonas sesquiterpénicas de *Persea americana* Mill ya que esta posee un alto grado de Inhibición de la inflamación tal como se demuestra en la presente investigación. Así mismo se recomienda realizar estudios clínicos en pacientes que estén recibiendo tratamiento antiinflamatorio y así comparar la eficacia y seguridad terapéutica de la crema en experimentación.
4. Se recomienda a los pacientes en general quienes presenten inflamaciones externas optar por un tratamiento alternativo adicional a sus tratamientos farmacológicos para la inhibición de la inflamación, Así mismo teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la investigación sobre efecto antiinflamatorio en la concentración al 20% se recomienda dicha presentaciones ya que tiene mejor efecto que el Diclofenaco.
5. Se recomienda evaluar el efecto toxico del extracto en diferentes concentraciones de las testas de *Persea americana* Mill.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Mundial de la Salud Ginebra. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005 [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf
2. García, P. Inflamación. Rev Real Acad ciencias exactas. España.2008.[Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>
3. Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics. 2nd ed. pag.959 [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: https://pharmacobook.files.wordpress.com/2016/12/goodman-and-gilman_s-the-pharmacological-basis-of-therapeutics-12e-mcgraw-hill-education-_medical-2011.pdf
4. Jimenez, S. Actividad analgésica del extracto etanólico de las cáscaras de las pepas de Persea americana Mill “Palta Fuerte” en ratones. Norbert Wiener; 2016. [Internet] Acceso: 02 Diciembre 2017 .Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/138206>
5. Soto, M. Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia Solanaceae Vol. 19, Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012 . pag. 361–73.[Internet]. . Acceso: 19 Febrero 2018 .Disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000400008
6. Salazar A, Goicochea S, Zavala E, et al. Investigación Acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la pepa de Jatrocurasca L. Vol. 31, Acta Médica Peruana. 2014[Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172014000400003&lng=es

7. Fonseca P, Alves M, Dellinghausen C, Barboza CR. Avocado: Characteristics, health benefits, and uses. *Cienc Rural*. 2016. [Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en: www.scielo.br/scielo.php?script=sci...84782016000400747

8. Moreno E, Ortiz B, Restrepo L. Total phenolic content and antioxidant activity of pulp extracts of six tropical fruits. *Rev Colomb Quim*. 2014 [Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid...28042014000300006

9. García A, López M. Validación pre-clínica de la actividad analgésica periférica y central de la decocción de hojas frescas de *Persea americana* Mill. *Aguacate y Musax paradisiaca* L. Plátano *Rev Cubana Plant Med* vol.19 no.3 Ciudad de la Habana. Cuba, 2014 [Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000300010

10. González A, Vázquez A, García N, et al. Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa*. Lamouroux. *Rev Cuba Plantas Med*. 2014. [Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid

11. Coleman J. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol* 2001;1(8):1397–406. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576901000868>

12. Mitchel N, Kumar A, Abul K, Fausto N. *Compendio de Robbins y Cotran: Patología Estructural y funcional*. 7ma ed. Elsevier, editor. 2007. 830 p.

13. Katzung, Bertam G; Master, Susan B.; Trevor A j. *Farmacología básica y clínica*. 11th ed. McGraw Hill, editor. China; 2010.

14. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9th ed. McGraw Hill, editor. México D.F.; 1996.

16. Gómez H, González K, Medina J. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat.* 2011;10(3):182–217. [Internet]. Acceso: 19 Febrero. 2018. Disponible en: www.redalyc.org/pdf/856/85618379003.pdf

17. Licastro F, Candore G, Lio D, et al. Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases. *Immun Ageing* 2005;2:8. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1166571&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

18. Nelson N. Prostaglandin Nomenclature. *J Med Chem.* 1974;17(9):911–8. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm00255a001>

19. Smith W, Garavito R, Dewitt D. Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem.* 1996;271(52):33157–61.

20. Bergström, S; Ryhage R. Prostaglandins and related factors. *J Biol Chem.* 1963;238(11):3555–64. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00895a045>

21. Thomas M. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations.* 5th ed. New York: Wiley-Liss; 2002. 1248 p. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jm020135a>

22. Cabral E, Casco S, Medin W. et al, Estambres N. Guía de consultas de diversidad vegetal. Clado Magnolides - Laurales: Lauraceae. 1987. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <https://es.scribd.com/document/199772973/Angiospermas-magnoliides-pdf>

23. Ferrer H. Aportes al conocimiento taxonómico del género *Persea* (Lauraceae) en Venezuela. *Hoehnea.* 2012;39(3):435–78. [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <http://www.scielo.br/pdf/hoehnea/v39n3/a07v39n3.pdf>

24. Macías V. Actividad biológica (farmacológica) y/o etnomédica; y compuestos fitoquímicos aislados de algunas especies de los géneros: *Persea*, *laurus*, *lindera*, *aniba*, *phoebe*, *nectandra*, *cassytha*, *cinnamon*, *licaria*, *ravensara*, *pleurothyrium*, *dehaasia*, *apollonias*, y *ne*. *Rev la Fac Ciencias la Salud Univ del Magdalena Colomb*. 2010;7(1). [Internet]. Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en : <file:///C:/Users/ernestoguillermo/Downloads/DialnetActividadBiologicaFarmacologicaYoEtnomedicaYCompue-4788166.pdf>

25. MINSAL: Ministerio de Salud de Chile. MHT: Medicamentos Herbarios Tradicionales - 103 especies vegetales. 1st ed. Chile G de, editor. Gobierno de Chile. Ministerio de Salud; 2010. 231 p. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018. Disponible en : www.seremisalud15.cl/docs/Listado_Medicamentos_Herbarios_Tradicionales.pdf

26. Fridovich I. Superoxide Dismutases and Related Matters. *Biochemistry*. 1997;18515–7. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018. Disponible en : <http://www.jbc.org/content/272/30/18515.short>

27. Rubal J. Estudio Fitoquímico de Especies del Género *Thapsia*. De Cádiz; 2009. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018. Disponible en http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB%2021-14_M.pdf

28. Chappell J, Coates R. Sesquiterpenes. *Compr Nat Prod II*. 2010;609–41. [Internet] Acceso : 19 febrero 2018. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080453828000058>

29. Lock O. Investigación Fitoquímica. 3ra ed. Ciencias D de, editor. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016. 287 p.

30. Ghantous A, Gali H, Vuorela H, et.al. What made sesquiterpene lactones reach cancer clinical trials? *Drug Discov Today* . 2010;15(15–16):668–78. [Internet]

Acceso : 19 febrero 2018.Disponible en:Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2010.06.002>

31. Wagner S, Kratz F, Merfort I. In vitro behaviour of sesquiterpene lactones and sesquiterpene lactone-containing plant preparations in human blood, plasma and human serum albumin solutions. *Planta Med.* 2004;70(3):227–33. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018.Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15114499>
32. Soo P, Sciences L, Copyright Z, Activity V, Pseudoguaianolide OF, Lactonesacutechronic S. In vivo activity of pseudoguaianolide sesquiterpene lactones in acute and chronic inflammation. *Life Sci.* 2000;66(26):2509–18. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018.Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20546845>
33. Siedle B, Gustavsson L, Johansson S, et al. The effect of sesquiterpene lactones on the release of human neutrophil elastase. *Biochem Pharmacol.* 2003;65(5):897–903. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018.Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628481>
34. Bruno M, Rosselli S, Maggio A, et.al. Antibacterial evaluation of cnicin and some natural and semisynthetic analogues. *Planta Med.* 2003;69(3):277–81. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018.Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21425665>
35. Cheng A, Lou Y, Mao Y, et.al. Plant Terpenoids:Biosynthesis and ecological functions. *J Integr Plant Biol.* 2007;49(2):179–86. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017.Disponible en:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1744-7909.2007.00395.x>
36. Parveen Z, Deng Y, Saeed M, et.al. Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Thesium chinense* Turcz Extracts and its Major Flavonoids, Kaempferol and Kaempferol-3-O-glucoside. *Yakugaku Zasshi .* 2007;127(8):1275–9. [Internet] Acceso : 19 febrero 2018.Disponible en:

<http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/yakushi/127.1275?from=CrossRef>

37. Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1st ed. Limusa, editor. México D.F.; 1973. 281 p. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000007956
38. Rodríguez D, Pacheco A, García M, et al. Isolation and structure elucidation of avocado seed (*Persea americana*) lipid derivatives that inhibit *Clostridium sporogenes* endospore germination. *J Agric Food Chem*. 2013;61(30):7403–11. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23829335>
39. Fraga B, Terrero D. Alkene- γ -lactones and avocadofurans from *Persea indica*: A revision of the structure of majorenolide and related lactones. *Phytochemistry*. 1996;41(1):229–32. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0031942295005188>
40. Hall I, Starnes C, Lee K, Waddell T. Mode of action of sesquiterpene lactones as anti-inflammatory agents. *J Pharm Sci*. 1980;69(5):537–43. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: [https://www.jpharmsci.org/article/S0022-3549\(15\)43194-6/pdf](https://www.jpharmsci.org/article/S0022-3549(15)43194-6/pdf)
41. Xu Q, Wang Y, Guo S, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of *Flos populi*. *J Ethnopharmacol* 2014;152(3):540–5. [Internet]. Acceso : 22 febrero 2018. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.01.037>
42. Di Rosa M, Giroud J, Willoughby D. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol*. 1971;104(1):15–29. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4398139>
43. Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncología*,. 2005;28(3):139–43. [Internet]. Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible

enhttp://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000300006

44. Lorenzo P, Moreno A, Lesa J, tal. Farmacología básica. 18va ed. Madrid:2008. 1212 p. [Internet] Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?isbn=8498354811>
45. Mendoza N, Farmacología médica, editorial médica panamericana. Mexico. 2008. 444 p. [Internet] Acceso: 19 Noviembre 2017. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=9687988444>

ANEXO 1: Matriz de consistência

Potencial Actividad antiinflamatoria de la crema a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana* Mill “Palta Fuerte” sobre ratones albinos

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL ¿Tendrán potencial actividad antiinflamatoria las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte”?</p> <p>ESPECÍFICOS ¿Cómo elaborar el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte”?</p> <p>2. ¿Existen lactonas sesquiterpénicas en el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte”?</p> <p>3. ¿En qué concentración presentara efecto antiinflamatorio la crema de lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte” frente a cepas de ratones?</p>	<p>GENERAL Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill</p> <p>ESPECÍFICOS 1. Elaborar el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill por método Soxhlet</p> <p>2. Identificar las lactonas sesquiterpénicas presentes en el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill</p> <p>3. Extraer las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill.</p> <p>4. Formular una crema a W/O con las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill</p> <p>5. Evaluar el efecto antiinflamatorio de la crema de lactonas de <i>Persea americana</i> Mill frente a cepas de ratones albinos.</p>	<p>GENERAL La crema elaborada a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill posee actividad antiinflamatoria.</p> <p>ESPECÍFICAS 1. Es posible elaborar el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte”</p> <p>2. Existen lactonas sesquiterpénicas en el extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte”</p> <p>3. Es posible extraer las lactonas sesquiterpénicas del extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill.</p> <p>4. Es posible formular una crema a W/O con las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill</p> <p>5. Existe una concentración óptima para obtener el efecto antiinflamatorio de la crema de lactonas de <i>Persea americana</i> Mill frente a cepas de ratones albinos.</p>	<p>VI: Crema elaborada con las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de <i>Persea americana</i> Mill</p> <p>VD: Actividad antiinflamatoria</p> <p>V. INT. Peso de los ratones</p>	<p>VI: Estudio fitoquímicos y estudio Farmacológico</p> <p>VD: Estudio Farmacológico</p> <p>V. INT. Magnitud</p>	<p>VI: Identificación de metabolitos secundarios Concentraciones a evaluar: Crema: 1%,5%,10%,20%,</p> <p>VD: Cambios en el peso de los ratones de las ratas medidos en la balanza.</p> <p>V. INT. Gramos de peso de los ratones</p>	<p>Diseño: Experimental</p> <p>Tipo: Aplicada</p> <p>Nivel: Exploratorio y descriptivo.</p> <p>Población: semillas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte” 56 ratones albinos de la cepa Balb/C53/CNPB</p> <p>Muestra Extracto clorofórmico de las testas de <i>Persea americana</i> Mill “Palta Fuerte” Crema a base lactonas sesquiterpénicas</p> <p>Técnicas: Estadístico Anova</p>

ANEXO 2: Clasificación Botánica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 261-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de **Yanina CHOQUELAHUA PAQUIYAURI** y **Jenny ILLESCA RAMON**, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada NORBERT WIENER; sido estudiada y clasificada como: ***Persea americana*** Mill.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: LAURALES

FAMILIA: LAURACEAE

GENERO: *Persea*

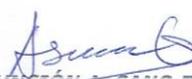
ESPECIE: *Persea americana* Mill.

Nombre vulgar: "palta fuerte"
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 6 de Noviembre de 2017

ACE/ddb


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ANEXO 3: Testimonios fotográficos



A

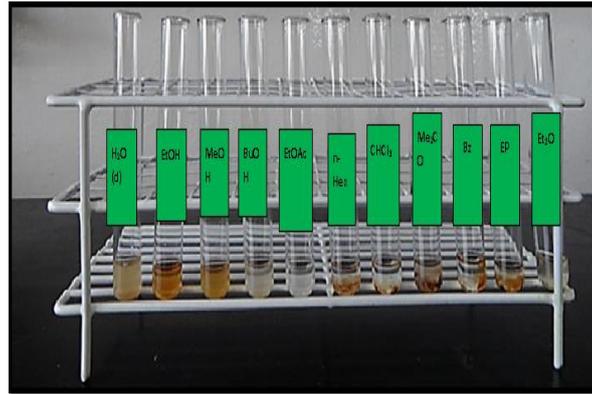


B



C

FOTOGRAFIAS A: Extracción de las testas de *Persea americana Mill* con el equipo soxleht, **B:** Preparación del extracto clorofórmico testas de *Persea americana Mill*, **C:** **Prueba** de solubilidad del extracto etanólico de las semillas de *Persea americana Mill*.



D

FOTOGRAFIAS D: Análisis fitoquímico del análisis cualitativo del extracto etanólico de las testas de las pepas *Persea americana* Mill “Palta fuerte”



E

FOTOGRAFIAS E: Análisis fotoquímico del análisis cualitativo del extracto etanólico de las cascaras de las pepas *Persea americana* Mill “Palta fuerte”



F



G



H



I

FOTOGRAFIAS F, G, H, I: Preparación de la formula en crema a base de Lactonas sesquiterpénicas

Fuente: Elaboración propia



J



K



L



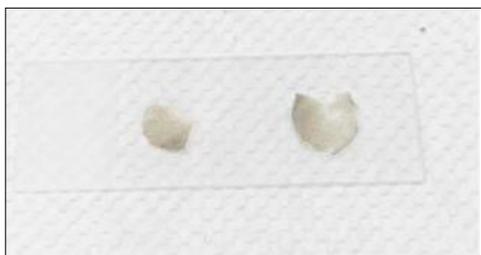
LL

FOTOGRAFIAS: J, K, L, LL: Administración farmacológica sobre ratones inducidos a inflamación

Fuente: Elaboración propia



M



N



Ñ

FOTOGRAFÍAS M, N, Ñ: Cortado y pesado de ambas orejas.



O

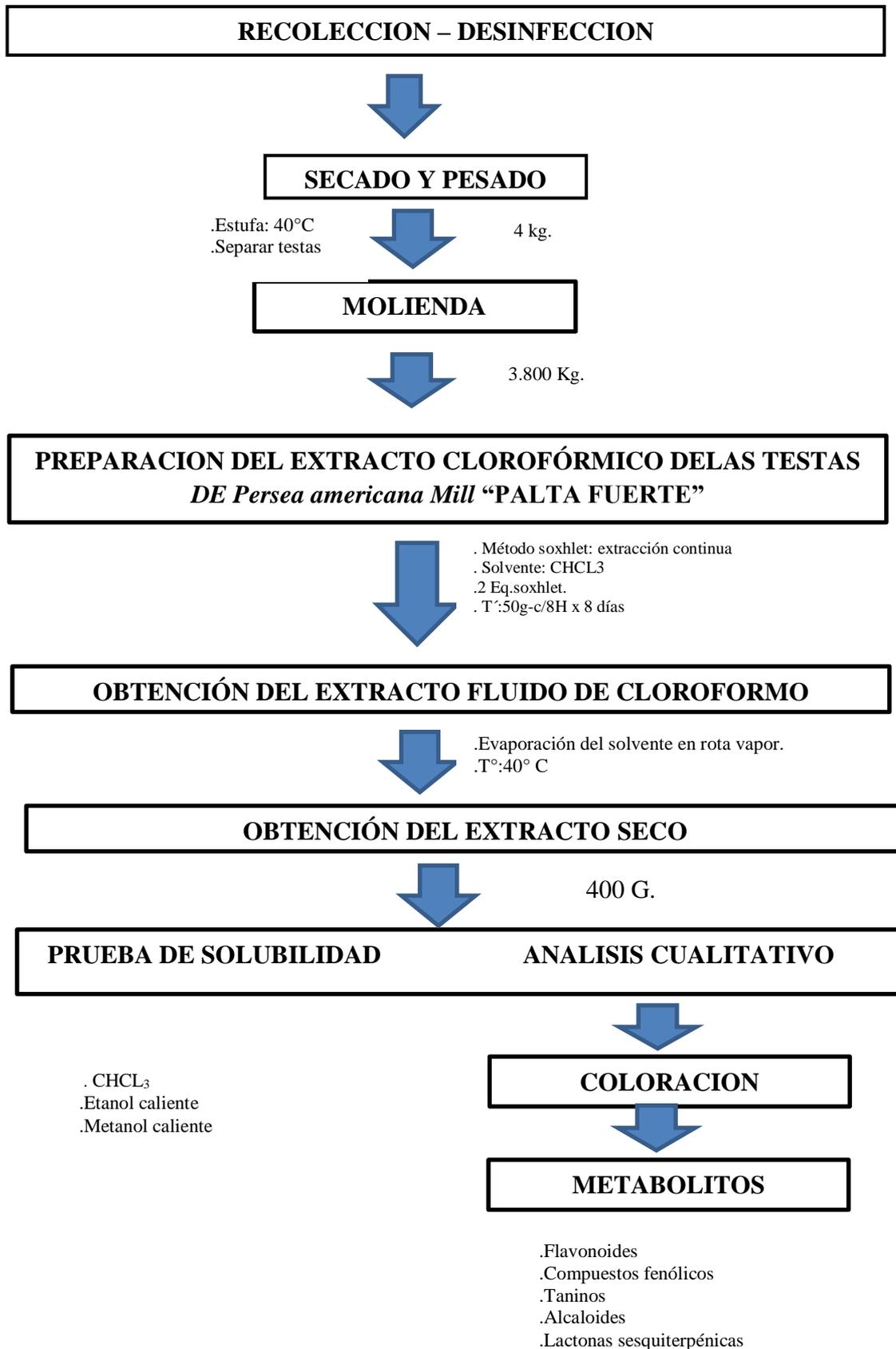


P

FOTOGRAFÍAS: O, P: asesoramiento

Fuente: Elaboración propia

FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

EXTRACTO SECO DE LAS TESTAS *DE Persea americana* Mill “PALTA FUERTE”



.Re disolver en etanol caliente.
.añadir sol. Acuosa de acetato de plomo al 5%.
.Filtrar

PP.ACETATO DE PLOMO



.Redisolver en etanol caliente.
.añadir acetato de plomo al 5%.
.Filtrar

OBTENCIÓN DE LACTONAS SESQUITERPENICAS



FORMULAR



EVALUACION FARMACOLOGICA