



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL
EXTRACTO SECO DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* L. “guayaba”, IN
VITRO**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR: BACHILLER SAROMO MELENDEZ, LUCINA VIOLETA

ASESOR: QF. GALLARDO VASQUEZ, GUILLERMO JOSE

LIMA, PERÚ

ENERO, AÑO 2019

Dedico a Dios porque mi vida depende de él, todo lo que tengo y lo que logre en esta vida se lo debo a él, puso en mi vida a personas bellas para mostrarme lo mucho que me ama, me llenó de fortaleza y sé que su propósito en mi vida es perfecto.

A mis padres Jesús Antonio Saromo Terrones y Violeta Santos Meléndez Macalapú, por su apoyo, orientación y el enorme sacrificio que hicieron día a día para poder ver hecho su sueño de verme toda una profesional.

A mi novio Javier Isaías Vega Méndez, por su amor, comprensión y porque siempre estuvo ahí animándome para lograr uno de mis objetivos como el ser profesional.

Agradezco a Dios por sus bendiciones, por llenarme de fortaleza y por conceder unos de mis anhelos.

A mis padres Jesús Antonio Saromo Terrones y Violeta Santos Melendez Macalapú por su apoyo incondicional y por ser parte de este logro en mi vida profesional.

A mi novio Javier Isaías Vega Méndez por motivarme en las circunstancias difíciles que transcurrieron en mi carrera profesional.

A la Universidad Alas Peruanas filial Huacho por formarme con un perfil ético, moral y con una visión humanística en mi vida profesional.

A los docentes por su dedicación al brindarme sus conocimientos, sus experiencias vividas y por ser parte de mi formación profesional.

RESUMEN

El presente estudio fue planteado con el **objetivo** de: Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, *in vitro*. **Material y método:** se recolectó el material biológico que consistió en hojas frescas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, estas fueron secadas, trituradas y maceradas por siete días; luego se filtró el macerado, se llevó a la estufa para concentrarlo y se obtuvo el extracto seco. La actividad antiinflamatoria *in vitro* se determinó por el método de la desnaturalización de proteínas (albúmina de huevo) inducida por calor. Se prepararon diferentes concentraciones de 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000µg/ml; estas se mezclaron con albúmina y solución salina tamponada con fosfato, luego fueron incubadas y sometidas al calor para observar la desnaturalización de proteínas, en condiciones ambientales se midió la absorbancia utilizando un espectrofotómetro UV/vis a 660nm. Se utilizó el Diclofenaco Sódico como fármaco de referencia. **Resultados:** El extracto presentó solubilidad en solventes polares y apolares; asimismo reveló la presencia en abundante cantidad de fenoles, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides. El estudio *in vitro* del extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” demostró inhibición dependiente de la dosis en la desnaturalización de la albúmina de huevo; estos valores fueron comparados estadísticamente con el fármaco de referencia, diclofenaco sódico. Se observó que el extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” a una concentración de 1000µg/ml presentó mayor actividad antiinflamatoria con un porcentaje de inhibición de 4663.5. Las **conclusiones** a las que se llegó son: las diferentes concentraciones del extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” poseen mejor actividad antiinflamatoria *in vitro* respecto al diclofenaco sódico.

Palabras clave: *Psidium guajava* L, extracto seco, desnaturalización de proteínas, actividad antiinflamatoria.

ABSTRACT

The present study was proposed with the **objective of:** To determine the anti-inflammatory activity of the dried extract of the leaves of *Psidium guajava* L. "guava", *in vitro*. **Material and method:** the biological material was collected, which consisted of fresh leaves of *Psidium guajava* L. "guayaba", these were dried, crushed and macerated for seven days; this was brought to the stove was concentrated and dried extract was obtained. Anti-inflammatory activity *in vitro* was determined by the heat-induced protein denaturation (egg albumin) method. Different concentrations of 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000µg/ml were prepared; these were mixed with albumin and phosphate buffered saline, then incubated and subjected to heat to observe the denaturation of proteins, under ambient conditions the absorbance was measured using a UV / vis spectrophotometer at 660nm. Diclofenac Sodium was used as a reference drug. **Results:** The extract showed solubility in polar and apolar solvents; also revealed the presence in abundant amounts of phenols, tannins, flavonoids, saponins, steroids and alkaloids. The *in vitro* study of the dry extract of *Psidium guajava* L. "guayaba" showed dose-dependent inhibition in the denaturation of egg albumin; these values were statistically compared with diclofenac sodium. It was observed that the dry extract of *Psidium guajava* L. "guava" at a concentration of 1000µg/ml showed greater anti-inflammatory activity with an inhibition percentage of 4663.5. The **conclusions** reached are: that the different concentrations of the dry extract of *Psidium guajava* L. "guayaba" have better anti-inflammatory activity *in vitro* than diclofenac sodium.

Key words: *Psidium guajava* L, dry extract, protein denaturation, anti-inflammatory activity.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA	¡Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANEAMIENTO METODOLÓGICO	4
1.1 Descripción de la realidad problemática	4
1.2 Delimitación de la investigación	7
1.3 Formulación del problema.	7
1.3.1 Problema principal	7
1.3.2 Problemas secundarios	8
1.4 Objetivos de la investigación	8
1.4.1 Objetivo general	8
1.4.2 Objetivos específicos	8
1.5 Hipótesis	9
1.5.1 Hipótesis general	9
1.5.2 Hipótesis secundarias	9
1.5.3 Identificación y clasificación de variables e indicadores	10
1.6 Diseño de la investigación	10
1.6.1 Tipo de investigación	10
1.6.2 Nivel de investigación	11
1.6.3 Método	11
1.7 Población y muestra	11
1.7.1 Población	11
1.7.2 Muestra	11
1.8 Técnicas e instrumentos	12
1.8.1 Técnicas	12
1.8.2 Instrumentos	22
1.9 Justificación	22
	vi

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	24
2.1 Fundamentos teóricos de la investigación	24
2.1.1 Antecedentes	24
2.1.2 Bases teóricas	29
2.1.3 Definición de términos	46
CAPÍTULO III. PRESENTACIÓN, INTERPRETACIÓN ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
3.1 Presentación de resultados	49
3.2 Interpretación, análisis y discusión de resultados	68
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
4.1 Conclusiones	73
4.2 Recomendaciones	74
FUENTES DE INFORMACIÓN	75
ANEXOS	83
Matriz de consistencia	834
Instrumentos de recolección de datos	86

INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años las plantas medicinales tradicionales han sido utilizadas para tratar diversas enfermedades, estas son consideradas por la población como fuente de sustancias naturales con excelentes efectos terapéuticos.

Las propiedades curativas de las plantas medicinales se deben tal vez a la presencia de varios metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas, esteroides, etc. Se dice que existe una creciente atención en la correlación de los constituyentes fitoquímicos de una planta medicinal con su actividad farmacológica.¹

La inflamación es una respuesta a una lesión, infección o irritación y se caracteriza por presentar signos como enrojecimiento, dolor, calor, hinchazón y pérdida de función en el área afectada. En ella se producen una serie compleja de actividades como la activación de enzimas, liberación de mediadores, migración celular, pérdida de la conformación molecular de las proteínas como de sus funciones biológicas al desnaturalizarse, la degradación y reparación de tejidos.^{2,3}

La inflamación se clasifica como aguda o crónica. La inflamación aguda está asociada con aumento de la permeabilidad vascular, infiltración capilar y emigración de leucocitos. La inflamación crónica se asocia con la infiltración de células inmunes mononucleares, macrófagos, monocitos, neutrófilos, activación de fibroblastos, proliferación y fibrosis.⁴

En la actualidad las enfermedades inflamatorias que incluyen diferentes tipos de enfermedades degenerativas como la artritis reumatoide son una causa importante de morbilidad de la fuerza laboral en todo el mundo.⁵

Debido a que la inflamación causa muchas reacciones y otros acontecimientos que pueden llegar a afectar algunos órganos y ser peligroso para la vida, existen los medicamentos convencionales como los Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) que usualmente son utilizados para tratar y aliviar la inflamación, estas son lo suficientemente potentes, pero a largo plazo la administración puede conducir a efectos secundarios severos.⁶

Cabe señalar que hay estudios donde demuestran que los AINEs se acoplan a la proteína plasmática, estas actúan previniendo o inhibiendo la desnaturalización térmica de la albúmina.⁷

Asimismo, estudios reportan que el uso prolongado de los AINEs se relaciona a diversas reacciones adversas, trastornos en el tracto digestivo, toxicidad u otros. Esta es la principal razón para el estudio, diseño y desarrollo de medicamentos de origen natural que posean actividades farmacológicas eficaces, seguras y con menos efectos adversos. Es por ello que investigadores están realizando estudios basados en la búsqueda de medicamentos naturales con propiedades antiinflamatorias y que estas sean más seguras y potentes.

Son pocos los trabajos realizados sobre el aislamiento y la identificación de los componentes activos responsables de la actividad terapéutica. Es por ello que se requieren amplios estudios científicos para el desarrollo de la actividad farmacológica de componentes bioactivos aislados.⁸

En la actualidad, gran parte de la población califica a los productos naturales como más seguros que los medicamentos convencionales, esto permite que se realice investigaciones farmacológicas a los principios activos con el propósito de demostrar las propiedades terapéuticas y que estas sean validadas científicamente.

La planta de *Psidium guajava* L., llamada por lo general guayaba, corresponde a la familia Myrtaceae, según estudios su origen comenzó en América del Sur.^{9,10} En la medicina tradicional se ha usado como agente hipoglucémico, antioxidante, hepatoprotector, antialérgico, antimicrobiano y antiinflamatorio, por lo tanto, permite tratar diversas enfermedades.^{11,12}

Se han identificado los fitoconstituyentes de las plantas medicinalmente importantes y se ha demostrado que varios metabolitos tienen buen rendimiento y que algunos poseen actividades biológicas útiles que pertenecen principalmente a compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenoides y triterpenos. Estudios fitofarmacológicos han confirmado que *Psidium guajava* exhiben una amplia gama de efectos biológicos.^{11,13} De esta manera mediante la investigación científica se han validado las propiedades terapéuticas de los metabolitos bioactivos de las hojas *Psidium guajava*.

Los extractos y metabolitos de esta planta, particularmente los de las hojas y los frutos, poseen actividades farmacológicas útiles.¹¹ Además las hojas de *P. guajava* L. presentan valores medicinales, asimismo hay evidencia científica de dichos valores como la propiedad antiinflamatoria. Existen diferentes preparaciones de las hojas de *Psidium guajava* L. científicamente validadas en relación a sus constituyentes fitoquímicos terapéuticos.^{14,15}

El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, utilizando el método de desnaturalización de proteínas, con finalidad de proporcionar información adicional científica e incentivar a futuras investigaciones acerca de las propiedades medicinales del *Psidium guajava* L. y brindar alternativas de tratamiento para las enfermedades con proceso inflamatorio a la población.

CAPÍTULO I

PLANEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1 Descripción de la realidad problemática

Actualmente la inflamación es considerada como una parte compleja de la respuesta biológica de los tejidos vasculares a estímulos perjudiciales tales como patógenos, células dañadas o irritantes. Es el resultado de la participación concertada de un gran número de factores vasoactivos, quimiotácticos y proliferativos en diferentes etapas; es por ello que hay muchos objetivos para la acción antiinflamatoria.¹⁶

La inflamación es importante y necesaria puesto que protege nuestro organismo de estos agentes dañinos y da inicio al proceso de regeneración o curación del tejido dañado.

En consecuencia, la inflamación, es la destrucción progresiva del tejido intransigente y la supervivencia del organismo. La inflamación crónica también puede conducir a enfermedades, como la fiebre de heno, aterosclerosis, artritis reumatoide, etc. Los signos clásicos de inflamación han sido reconocidos durante mucho tiempo; los tejidos se vuelven rojos,

hinchados, sensibles, dolorosos, hay calor local puesto que el paciente puede llegar a presentar fiebre. Sin embargo, cuando el proceso de inflamación desaparece y continúa a fuego lento en nuestro cuerpo por un período prolongado, esto comienza a ser perjudicial, a ello se le conoce como inflamación crónica. La inflamación puede ser categorizada principalmente como inflamación aguda y crónica.¹⁷

Las enfermedades inflamatorias agudas y crónicas siguen siendo todavía uno de los tantos problemas que aquejan la salud poblacional. Hoy hay varios agentes terapéuticos conocidos para tratar los trastornos inflamatorios, pero su uso prolongado a menudo puede conducir a intolerancia gástrica, depresión de la médula ósea, retención de agua y sal. Por esta razón, hay una necesidad de encontrar y desarrollar nuevos medicamentos antiinflamatorios con bajos efectos.¹⁸

Los productos naturales han contribuido significativamente al desarrollo de la medicina moderna. En los últimos tiempos, la medicina tradicional está siendo reevaluada en todo el mundo, mediante una amplia investigación sobre las diferentes especies de plantas y sus principios activos terapéuticos. La gran riqueza del reino vegetal puede representar una nueva fuente de nuevos compuestos con importantes actividades antiinflamatorias.¹⁹

La medicina tradicional nos proporciona el desarrollo de nuevos remedios alternativos terapéuticos debido a que es notable su seguridad, eficacia y porque hay poca presencia de reacciones adversas en su uso; asimismo son muy rentables por su bajo costo y lo importante que son accesibles para la población.

En la actualidad existen ciertos problemas relacionados con el uso de animales en los experimentos farmacológicos, es por ello que se opta por métodos adecuados y diferentes para la investigación de nuevos agentes

terapéuticos que pueden ser usados en las enfermedades con procesos inflamatorios.

En el Perú, el uso curativo de la *Psidium guajava L.* está asentado en costumbres naturistas; en nuestra actualidad existen numerosos estudios científicos a nivel mundial enfocados en la utilidad de sus estructuras químicas y en sus múltiples usos como agentes antioxidantes, antiespasmódica, antiinflamatorio, antianémica, u otros.²⁰

Por otra parte, investigadores han informado sobre las propiedades del *Psidium guajava L.* “guayaba”, demostrando que los extractos de las hojas de guayaba tienen propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antimicrobianas y actividad antioxidante.²¹

Asimismo, se han reportado estudios de la actividad antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* del preparado etanólico de las hojas de *guayaba*.²² Además otras investigaciones señalan a su vez que el extracto de las hojas de *guayaba* contiene flavonoides, principalmente derivados de quercetina, que en el cuerpo se hidrolizan para dar la aglicona quercetina y esta podría ser responsable de la actividad antiinflamatoria y analgésica.²³

Por todo lo dicho, la reciente investigación tiene como propósito determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de *Psidium guajava L.* “guayaba” por el método de la desnaturalización de la proteína, *in vitro*; este nuevo modelo de estudio permitió desarrollar conocimientos científicos a través de la investigación experimentación para así ofrecer a la población alternativas terapéuticas para las enfermedades con proceso inflamatorio.

1.2 Delimitación de la investigación

1.2.1 Delimitación temporal

La actual investigación se realizó en el periodo de junio 2018 a octubre del 2018.

1.2.2 Delimitación geográfica

La recolección de la muestra se realizó en la localidad de Andahuasi Distrito de Sayán (584 msnm), perteneciente a la Provincia de Huaura del departamento de Lima, los ensayos se realizaron en los ambientes del laboratorio de la Universidad Alas Peruanas-Filial Huacho.

1.2.3 Delimitación social

Este trabajo tiene como propósito brindar alternativas de prevención y tratamiento, efectivo, a bajo costo y fácilmente accesible a la población y poder así conservar la salud de una forma natural.

1.3 Formulación del problema.

1.3.1 Problema principal

¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba", *in vitro*?

1.3.2 Problemas secundarios

- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 31,25µg/ml, *in vitro*?
- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 62,5µg/ml, *in vitro*?
- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 125µg/ml, *in vitro*?
- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 250µg/ml, *in vitro*?
- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 500µg/ml, *in vitro*?
- ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 1000µg/ml, *in vitro*?

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, *in vitro*.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 31,25µg/ml, *in vitro*.

- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 62,5µg/ml, *in vitro*.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 125µg/ml, *in vitro*.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 250µg/ml, *in vitro*.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 500µg/ml, *in vitro*.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 1000µg/ml, *in vitro*.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis general

El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.

1.5.2 Hipótesis secundariaa

- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 31,25µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.
- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 62,5µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.
- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 125µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.

- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 250µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.
- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 500µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.
- El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” al 1000µg/ml presenta actividad antiinflamatoria *in vitro*.

1.5.3 Identificación y clasificación de variables e indicadores

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	ASPECTOS O DIMENSIONES	INDICADORES
INDEPENDIENTE	Concentraciones del extracto seco de las hojas de guayaba	Concentraciones de los extractos 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL.
DEPENDIENTE	Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> del extracto seco de las hojas guayaba.	Absorbancia

1.6 Diseño de la investigación

1.6.1 Tipo de investigación

- Experimental
- Transversal
- Prospectivo
- Aplicada

1.6.2 Nivel de investigación

- Explicativo

1.6.3 Método

Este estudio evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de guayaba, el cual se utilizó el método indirecto *in vitro* descrito por Chatterjee P, *et al*, que consistió en la inhibición de la desnaturalización de proteínas de la albúmina de huevo inducida por calor, frente al diclofenaco sódico como fármaco de referencia.

1.7 Población y muestra

1.7.1 Población

Plantas de *Psidium guajava* L. “guayaba” que crece en la localidad de Andahuasi, Distrito de Sayán Provincia de Huaura, Departamento de Lima ubicado entre los 584 msnm.

1.7.2 Muestra

Se recolectó 1kg de hojas frescas de *Psidium guajava* L. “guayaba” de una edad aproximadamente de 7 años, de la localidad de Andahuasi, Distrito de Sayán Provincia de Huaura, Departamento de Lima.

1.8 Técnicas e instrumentos

1.8.1 Técnicas

1.8.1.1 Recolección

Para la recolección de las hojas frescas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, estas se colectaron en la localidad de Andahuasi, distrito de Sayán, Provincia de Huaura.

1.8.1.2 Selección

Luego de coleccionar las hojas frescas de *Psidium guajava* L. “guayaba” se procedió a separar las hojas que se encontraron sin ningún signo de contaminación o infección, es decir, aquellas hojas en buen estado físico, eliminando ramas u otros elementos extraños para lavarlas y proceder al secado.²⁴

1.8.1.3 Desecación

Previamente para secar las hojas de guayaba se lavaron con agua destilada para que estén limpias del polvo, seguido se procedió a desecarlas utilizando el sistema de calor artificial en la estufa. Las hojas fueron sometidas a 50°C durante 5 horas.²⁴

1.8.1.4 Trituración

Es importante tener un grado de trituración ideal puesto que ello va a permitir aumentar la superficie de contacto de la planta y el disolvente durante el proceso de extracción. Para ello se utilizó un molino con platos domésticos (marca Corona), se realizó trituraciones continuas hasta que se obtuvo un pulverizado fino y

uniforme. Este a su vez se almacenó en un frasco de vidrio para su posterior uso.²⁴

1.8.1.5 Obtención del extracto seco

- Se pesó 50g de droga vegetal (hojas) de *Psidium guajava* L. “guayaba” debidamente secado a un grado de pulverización, este colocó en un frasco ámbar de contenido suficiente.
- Seguido se añadió 350ml del disolvente alcohol de 70°, se cerró y se agitó vigorosamente.
- Luego se procedió a la maceración por 7 días realizando movimientos esporádicos para facilitar el proceso de extracción en dicho periodo, a su vez este se conservó en un lugar fresco, seco y lejos de la luz solar.²⁴
- Pasado este periodo se filtró y la solución resultante se colocó en la estufa a una temperatura de 50C° durante 7 días para eliminar el solvente, pasado dichos días se obtuvo el extracto seco deseado.^{19,24}

1.8.1.6 Marcha de Solubilidad

- Para realizar la prueba de solubilidad, se pesaron 500mg del extracto seco de las hojas de guayaba.
- Seguido se colocaron en los 9 tubos de ensayo y se agregó 1 ó 2 ml del solvente de diferente polaridad, como: agua destilada, metanol, acetona, cloroformo, etanol al 70°, benceno, acetato de etilo, éter de petróleo y éter etílico, luego se agitó y se observaron los resultados.

1.8.1.7 Marcha fitoquímica

Se realizó las pruebas químicas preliminares al extracto hidroalcohólico de las hojas de guayaba siguiendo el método descrito por Sangeetha *et al*⁴, para determinar la presencia de metabolitos secundarios por medio de reacciones de coloración y de precipitación con el empleo de reactivos establecidos y estandarizados.

a. Identificación de carbohidratos

➤ Prueba de fehling

A un 1ml del extracto, se añadió 1 ml de cada una de las soluciones del reactivo Fehling A y B, estas fueron calentadas en baño de agua hirviendo durante 2 minutos. Se observó el cambio de color, un precipitado rojo indicó la presencia de azúcar.⁴

➤ Prueba de barfoed

A 1 ml de extracto, se agregó 1 ml de reactivo de Barfoed, esta preparación se calentó en agua hirviendo durante 2 minutos. El cambio de color fue observado, un precipitado rojo indicó la presencia de azúcar. ⁴

➤ La prueba de benedict

A 1 ml de extracto, se agregó 1 ml de reactivo de Benedict. La mezcla se calentó en agua hirviendo durante 2 minutos. Se observó el resultado, un precipitado rojo que señala la detección de azúcar. ⁴

b. Identificación de fenoles

➤ Prueba de acetato de plomo

Se agregó a 1 ml de extracto un volumen igual de agua destilada y del reactivo acetato de plomo a un 10%. Un precipitado voluminoso de color blanco señaló la detección de fenoles. ⁴

c. Detección de taninos

➤ Prueba de cloruro férrico

Se agregó a 1 ml de extracto un 1ml de agua destilada y se le adicionó unas pocas gotas de solución neutra de cloruro férrico al 5%. La formación del color azul verdoso señaló la detección de taninos. ⁴

d. Identificación de flavonoides

A 1 ml de extracto se trató con solución de hidróxido de amonio. La fluorescencia amarilla indicó la presencia de flavonoides. ⁴

e. Identificación de saponinas

Se añadió a 1ml de extracto 1 ml de agua destilada, seguido se realizó agitaciones durante 5 minutos. La formación de espuma de 1 cm indicó la presencia de saponinas. ⁴

f. Identificación de glucósidos

➤ Prueba legal

A 1 ml de extracto se agregaron cloroformo (1ml) y solución de amoníaco 10% (1ml). La formación de color rosa indicó la presencia de glucósidos. ⁴

g. Detección de terpenoides

A 1 ml de extracto se agregó cloroformo (1 ml) y cuidadosamente se añadió 0.5ml de ácido sulfúrico concentrado. La formación de color rojo marrón en la interfaz indicó la presencia de terpenoides. ⁴

h. Detección de alcaloides

Se mezclaron 2 ml de extracto con 2 ml ácido clorhídrico, luego se filtraron y fueron probados cuidadosamente con los diversos reactivos alcaloides como:

➤ Prueba de mayer

Se le añadió a 1 ml del filtrado unas gotas de la solución de Mayer. Un precipitado de color cremoso o blanco indicó la prueba como positiva. ⁴

➤ Prueba de wagner

Se le añadió a 1 ml del filtrado unas gotas de la solución de Wagner. El cambio de color fue observado, un precipitado de color marrón rojizo se confirmó la prueba como positiva. ⁴

➤ **Prueba de dragendorff**

A 1 ml de filtrado se añadió 1 ml de reactivo de Dragendorff. El resultado fue observado, un precipitado amarillo prominente confirmó la prueba como positiva. ⁴

i. Identificación de esteroides

A 1 ml de extracto se añadió un volumen igual de cloroformo y se agregó algunas gotas de ácido sulfúrico concentrado. La apariencia del anillo marrón indicó la presencia de esteroides. ⁴

j. Identificación de cumarinas

A 1 ml de extracto se añadió 1ml de NaOH al 10%. La formación de color amarillo indicó la presencia de cumarinas. ⁴

k. Identificación de quinonas

A 1 ml de extracto se añadió ácido sulfúrico concentrado. La formación del color rojo indicó la presencia de quinonas. ⁴

1.8.1.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

❖ **Preparación de la solución salina tamponada con fosfato (PBS)**

a) Preparación del ácido clorhídrico 1M (HCL 1M)

➤ Se preparó 100ml de ácido Clorhídrico 1M (HCl 1M), previamente se colocó en un vaso precipitado agua destilada.

- Luego se agregó 8.62ml de HCl concentrado y se completó el volumen de 100ml con agua destilada.²⁵

b) Preparación del PSB

- Se preparó 250ml de solución salina tamponada con fosfato, para ello se pesaron las siguientes sales según la tabla 1:

Tabla 1. Preparación de la Solución salina tamponada con fosfato (PBS)

Sales	Volumen 250ml
NaCl	2.015 g
KCl	0.055 g
Na ₂ HPO ₄	0.2875 g
KH ₂ PO ₄	0.05 g

- Seguido se añadió las sales en un vaso precipitado apropiado para la capacidad del volumen de la solución y se agregó el volumen de agua destilada requerido para diluir las sales.
- Luego se ajustó el pH a 6.4 con HCl 1M gota a gota utilizando para ello una pipeta pasteur.²⁵

❖ Procedimiento de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

a) Preparación de las muestras

- Se preparó diluciones de 100ml de extracto seco hidroalcohólico a las diferentes concentraciones: 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/ml; para ello se pesó la cantidad adecuada del extracto seco y se diluyó con el alcohol de 70° para cada concentración, según la tabla 2:

Tabla2. Preparación de las concentraciones del extracto seco hidroalcohólico de *Psidium guajava* L. “guayaba”

Concentración	Extracto seco (g)	Solvente csp (ml)
31.25 µg/ml	0,0031 g	100 ml
62.5 µg/ml	0,0063 g	100 ml
125 µg/ml	0,0125 g	100 ml
250 µg/ml	0,025 g	100 ml
500 µg/ml	0.05 g	100 ml
➤ 1000 µg/ml	0.1 g	100 ml

- Seguido se preparó 5 muestras por cada concentración.
- Cada muestra estaba conformada por una mezcla de reacción (5 ml) que consistió en:
 - 0,2 ml de albúmina de huevo (de huevo de gallina fresco),
 - 2,8 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 6,4) y
 - 2 ml de las diferentes concentraciones de las disoluciones del extracto seco hidroalcohólico de las hojas de guayaba, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/ml.
- Luego las mezclas de reacción preparadas se incubaron a $37 \pm 2^\circ$ C durante 15 minutos y seguidamente se calentaron en la estufa a 70° C durante cinco minutos.
- Después se dejó enfriar en condiciones ambientales de laboratorio y se midió la turbidez de estas soluciones utilizando un espectrofotómetro de doble haz UV/visible a una longitud de onda de 660 nm.¹⁹

b) Control

- Se tomó como control el disolvente alcohol de 70° y se procedió a medir su absorbancia utilizando un espectrofotómetro de doble haz UV/visible a una longitud de onda de 660 nm. El control representa el 100% de desnaturalización de proteínas.¹⁹

c) Preparación del fármaco de referencia

- Se preparó diluciones de 100 ml de diclofenaco sódico a diferentes concentraciones: 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/ml; para ello se pesó la cantidad adecuada de diclofenaco sódico y se diluyó con el alcohol de 70° para cada concentración, según la tabla 3:

Tabla 3. Preparación de las diferentes concentraciones del Diclofenaco sódico

Concentración	Diclofenaco Sódico (g)	Solvente csp (ml)
31.25 µg/ml	0,0031 g	100 ml
62.5 µg/ml	0,0063 g	100 ml
125 µg/ml	0,0125 g	100 ml
250 µg/ml	0,025 g	100 ml
500 µg/ml	0.05 g	100 ml
1000 µg/ml	0.1 g	100 ml

- Luego se prepararon 5 muestras por cada concentración.
- Cada muestra estaba conformada por una mezcla de reacción (5 ml) que consistió en:
 - 0,2 ml de albúmina,
 - 2.8 ml de solución salina tamponada con fosfato y
 - 2ml de las concentraciones de diclofenaco sódico, como fármaco de referencia.
- Seguido se incubaron a $37 \pm 2^\circ \text{C}$ en la estufa durante 15 minutos y seguidamente se calentaron a 70°C durante cinco minutos.
- Se dejó enfriar y se midió la turbidez de estas utilizando un espectrofotómetro de doble haz UV/visible a una longitud de onda de 660 nm.¹⁹

d) Cálculo para el porcentaje de inhibición

- El porcentaje de inhibición de la desnaturalización proteica o precipitación (estabilización de la proteína) se calculó sobre una base porcentual relativa a los controles de la siguiente manera:

$$\% I = 100 \times [Vt/Vc - 1]$$

Donde:

Vt = Absorbancia de la muestra de prueba.

Vc = Absorbancia del control.

- Se obtuvo los resultados de cada concentración del extracto seco y del fármaco de referencia y se procedió a realizar las comparaciones estadísticas.¹⁹

1.8.2 Instrumentos

Se registraron las medidas de absorbancia en la ficha de los datos recolectados. **(ANEXO 03)**

1.9 Justificación

1.9.1 Justificación

En la actualidad la medicina natural tiene un alto impacto en la población debido a que muchas plantas medicinales poseen propiedades curativas y preventivas, además se están descubriendo agentes biológicos de origen natural que presentan propiedades antiinflamatorias con baja incidencia de efectos secundarios, muy efectivas y seguras al ser utilizadas por la población.

Asimismo, investigaciones a nivel internacional y nacional demuestran que las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” posee propiedades antiinflamatorias.

Este presente estudio está enfocado en la investigación de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”, lo que además permitió afianzar nuestros conocimientos y cumplir con el objetivo de ofrecer un tratamiento alternativo para las enfermedades con proceso inflamatorio y así aportar a nuevas investigaciones farmacológicas para la elaboración de fitofármacos con menos efectos adversos, a bajo costo y al alcance de la población.

1.9.2 Importancia

La importancia de esta investigación consistió en demostrar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guayava* L. “guayaba”, por el método de desnaturalización de proteínas según Chatterjee P, *et al*, y así demostrar mediante este modelo de evaluación a nivel local la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los principios activos presentes en el extracto seco de las hojas frescas de *Psidium guayava* L. “guayaba”.

Dada la importancia de las plantas medicinales y el creciente potencial que tienen en sus posibles usos; mediante este trabajo de investigación se pretendió contribuir al tratamiento natural de las enfermedades con procesos inflamatorios y así disponer de alternativas para la elaboración de un producto de bajo costo, luego de confirmada su acción y una posterior formulación farmacéutica para ensayos clínicos.

Asimismo, dar a conocer a la población sobre alternativas terapéuticas eficaces y seguras en sus usos como en las enfermedades con procesos inflamatorios; además esto permitirá formular nuevos productos naturales sin que existan efectos adversos, que estén al alcance y acceso los principios activos terapéuticos de las hojas de *Psidium guayava* L. “guayaba” a la población.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Fundamentos teóricos de la investigación

2.1.1 Antecedentes

De la Cruz M, et al, realizaron un estudio en la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana en Iquitos en el año 2017, con el **objetivo** de Determinar la actividad antiinflamatoria (AAI) y citotóxica (ACT) *in vitro*, de 17 especies vegetales procedentes de la Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo, Arboretum de Jenaro Herrera, Jardín Botánico de IMET-EsSalud y del INIA – Loreto. **Método**: Se colectó el material biológico que consistió en corteza, tallo y/o hojas. Las muestras fueron secadas, micropulverizadas y con éstas se prepararon extractos hidroalcohólicos (7:3), las cuales fueron maceradas por siete días; éste fue concentrado en rotavapor y se preparan extractos acuosos. Para evaluar la AAI, se prepararon soluciones de 31.25, 62.5, 125.00, 250.00, 500.00, 1000.00 µg/ml, las cuales se incubaron con albúmina, para observar la desnaturalización de la misma, para lo cual se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UVvis a 600nm.

Se utilizó diclofenaco sódico USP como fármaco de referencia. Obteniendo como **resultado** y **conclusión**: las especies con mayor porcentaje de inhibición antiinflamatoria fueron: *Remijia pedunculata*, *Garcinia macrophylla* y *Dracontium loretense* y, con alta actividad citotóxica fueron: *Garcinia madruno*, *Guazuma ulmifolia* y *Cajanus cajan* con IC50 < a 10 ug/mL respectivamente. ²⁶

Acostupa F, et al, realizaron un estudio en la Universidad Mayor de San Marcos, Lima, Perú, en el año 2017 con el **objetivo** de: Determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los extractos etanólicos de *Croton lechleri*, *Chenopodium ambrosioides* L., *Peperomia congona* Sodiro y *Perezia coerulescens*. **Material y Método**: Estabilización de la membrana de glóbulos rojos. Se emplearon muestras de sangre humana y se evaluaron cuatro diluciones seriadas, 200, 100, 50 y 10 µg/mL de los diferentes extractos, se usó una solución isosalina (0,85%, pH 7,2) como medio de dilución, se utilizó como fármaco de referencia la dexametasona (200 ug/mL). Se determinaron los porcentajes de hemólisis y protección de la membrana del glóbulo rojo. Obteniendo como **resultado**: De que se encontraron diferencias significativas entre los promedios de porcentajes de protección y las concentraciones en el caso de *Ch. ambrosioides* L, *P. coerulescens* y *C. lechleri*. Se encontró correlación lineal entre los porcentajes de protección y la concentración en el caso de *Ch. ambrosioides* L, *C. lechleri* y *P. coerulescens*. Los extractos de *C. lechleri* a 100 y 200 ug/mL; y el extracto de *P. coerulescens* a 200 ug/mL no mostraron diferencias significativas en sus porcentajes de protección en comparación al uso de dexametasona 200 ug/mL. Se **concluye** que: Los extractos etanólicos de *P. coerulescens*, *Ch. ambrosioides* L y *C. lechleri*, presentan actividad antiinflamatoria mediante la inhibición de la lisis de la membrana celular en glóbulos rojos. En el caso del extracto de *C. lechleri* a 100 y 200 ug/mL, así como el extracto de *Ch. ambrosioides*

L a una concentración de 200 ug/mL, poseen un desempeño similar al fármaco de referencia (dexametasona).²⁷

García J, et al, realizaron un estudio en el Instituto Tecnológico de la Producción, Perú, en el año 2017 con el **objetivo** de: Evaluar la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los polisacáridos (PCs) del tegumento de *Patallus mollis* mediante la prueba de la estabilidad de la membrana celular del glóbulo rojo y la desnaturalización de la albumina. **Materiales y métodos**. Los especímenes fueron recolectados en la bahía de Pucusana, se identificaron y los PCs se extrajeron mediante digestión enzimática con bromelina (PBr), papaína (PPa) y pepsina (PPE). Se cuantificó el contenido de azúcares, sulfatos y proteínas totales mediante métodos colorimétricos. Para la prueba de estabilidad de la membrana, se preparó una solución de glóbulos rojos [10 % v/v], la cual se mezcló con PBS, NaCl [0,36%], y PCs [2000– 62.5 µg/mL]. Para la prueba de la desnaturalización de la albúmina, la mezcla consistió en suero de albúmina bovina [0,5%] con PCs [2000 – 62.5 µg/mL]. Se utilizó como controles diclofenaco sódico y agua destilada. Los resultados se analizaron en base a su absorbancia medida en un espectrofotómetro de placas a 420 y 660 nm. Obteniendo como **resultados** que: Los PCs presentaron niveles elevados de azúcares y proteínas totales, así como presencia de sulfatos totales. Además, los PCs demuestran una capacidad estabilizadora de la membrana, siendo la máxima presentada por PBr a una concentración de 62.5 µg/mL. Solo el PPa presentó inhibición de la desnaturalización de albúmina inducida por calor a una dosis de 2000 µg/mL. Se **concluye** que: Los resultados sugieren que los PCs tienen actividades antiinflamatorias y son candidatos potenciales para la formulación de un ingrediente alimentario funcional y/o fármaco para tratar enfermedades inflamatorias.²⁸

Kariawasam K, et al, realizaron el estudio en la Universidad de Defensa General Sir John Kotelawala en Sri Lanka, India en el año 2017, con los **objetivos** de Evaluar los componentes fitoquímicos y las propiedades antiinflamatorias del extracto acuoso de las hojas liofilizadas de la variedad de *Psidium guajava L.* La investigación fitoquímica se realizó con pruebas cualitativas estándar y se reveló la presencia de terpenoides, alcaloides, carbohidratos, flavonoides, taninos, fenoles, glucósidos y proteínas. **Método:** La actividad antiinflamatoria fue determinada por dos modelos *in vitro*; inhibición de la desnaturalización inducida por calor (que es un índice de actividad antiinflamatoria) de la albúmina de huevo y la albúmina de suero bovino. Obteniendo como **resultados** que: El porcentaje de inhibición de la desnaturalización de la albúmina de huevo ($R^2 = 0,612$, $p = 0,01$) y albúmina de suero bovino ($R^2 = 0,621$, $p = 0,01$) dependían de la dosis. Se observó la máxima inhibición a 125 $\mu\text{g/ml}$ ($\text{CI}_{50} = 15,625 \mu\text{g/ml}$) para la albúmina de huevo y a 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ($\text{IC}_{50} = 50 \mu\text{g/ml}$) para la albúmina de suero bovino. El efecto antiinflamatorio obtenido en la prueba de desnaturalización de la seroalbúmina bovina fue comparable con diclofenaco sódico y en la prueba de desnaturalización de la albúmina de huevo fue aproximadamente 30 veces mayor que el medicamento de referencia. Se **concluye** que: El extracto acuoso de hoja de la variedad de *Psidium guajava L.* provenientes de Sri Lanka posee una marcada actividad antiinflamatoria *in vitro* y este es un hallazgo novedoso.²⁹

Kabdal M, et al, realizaron un estudio en la Universidad de Kumaon en la India en el año 2016, con el **objetivo** de evaluar la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto de las hojas de *Callistemon citrinus* mediante el uso de la técnica de inhibición de la desnaturalización de la albúmina. **Método:** Los diferentes extractos, es decir, clorofórmico, extracto etanólico y acuoso se utilizaron para la incubación con la albúmina huevo en diferentes concentraciones en

condiciones experimentales controladas y sometidos a la determinación de su absorbancia para así evaluar la actividad antiinflamatorio. Se usó como medicamento de estándar/referencia el Diclofenaco sódico. Obteniendo como **resultado** que: las diferentes concentraciones del extracto mostraron inhibición en la desnaturalización de proteínas. El efecto del medicamento estándar (diclofenaco sodio) fue menor en comparación con el extracto de prueba. Se **concluye** que: Del estudio se puede deducir que los diferentes extractos de *Callistemon citrinus* poseen una marcada actividad antiinflamatoria *in vitro*, el extracto acuoso posee mayor actividad que la muestra clorofórmica, etanólica y el estándar (diclofenaco sodio) en contra de la desnaturalización de la proteína. El efecto razonablemente es debido al contenido de terpenoides y de flavonoides presentes en el extracto.³⁰

Chatterjee P, et al, realizaron un estudio en la Escuela Tecnológica de Bengala en la India en el año 2012, cuyos **objetivos** fueron evaluar y comparar los efectos antiinflamatorios de extractos acuosos de las hojas de té verde y té negro (*Camellia sinensis*) en contra de la desnaturalización de la proteína *in vitro*. **Método**: Los extractos de prueba de diferentes concentraciones se incubaron con albúmina de huevo en condiciones experimentales controladas y sometidos a la determinación de absorbancia para evaluar la propiedad antiinflamatoria. Se utilizó diclofenaco sódico como fármaco de referencia. Obteniendo como **resultado** que: Ambos extractos de té mostraron una inhibición dependiente de la concentración de la desnaturalización de la proteína (albúmina). Se **concluye** que: Los hallazgos actuales de las hojas de té verde como las de té negro poseen un marcado efecto antiinflamatorio contra la desnaturalización de la proteína, *in vitro*. Se descubrió que el té verde era más activo que el té negro, posiblemente debido al contenido más alto de flavonoides del té verde.¹⁹

2.1.2 Bases teóricas

2.1.2.1 *Psidium guajava* L. “guayaba”

A) Descripción botánica

La planta de *Psidium guajava* L. pertenece a la familia Mirtacea, es un árbol duradero, y se caracteriza por alcanzar una altura promedio entre 3 y 7 metros; el tronco mide hasta 30 cm de diámetro, su corteza es de color marrón o gris-verdoso, tiene delgadas escamas que se desprenden, sus hojas son elípticas y oblongas de 4 a 12 cm de largo por 3.5-4.5 cm de ancho, sus nervaduras son prominentes en el dorso con una superficie cubierta con pelos muy finos; sus pedúnculos axilares tienen de 1-3 flores con una superficie vellosa, su cáliz está rodeado por la yema, sus pétalos de color blanco miden de 1.5-2cm; sus lóbulos del cáliz miden de 1-1,5cm y están unidos al botón; su fruto (guayaba) tiene una forma parecida al de la pera de color amarillo que mide de 3 a 6cm de diámetro.²⁴

B) Ubicación taxonómica

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Rosidae*

Orden: *Myrtales*

Familia: *Myrtaceae*

Género: *Psidium*

Especie: *Psidium guajava* L.

NOMBRE Vulgar: “guayaba”

Ver Anexo N° 2

C) Hábitat

El género *Psidium* alcanza cerca de un centenar de especies de América tropical y neotropical. *Psidium guajava* es oriunda de América tropical, probablemente según estudios informan del sur de México o del Amazonas colombiano, desde donde se habría extendido. Asimismo, se han descubierto restos de esta especie en antiguos cementerios del Perú (Ancón, Gallinazo, Virú, Ocucaje, etc). En la actualidad se encuentra en la naturaleza expandido en regiones tropicales y subtropicales del mundo, llegando hasta los 1200-1800 metros de altura, cultivándose en mayor cantidad en regiones templadas con temperaturas intermedias como en Europa. Existen más de 90 clases, estando al máximo de producción concentrada en los países como la India, Brasil, Colombia, Cuba, Hawai, Puerto Rico, Estados Unidos, Cuba y México.²⁴

En el Perú se distribuye en la región costa, sierra baja y Amazonía llegando hasta 3000msnm.²⁴

D) Composición química

Hoja: están presentes los taninos (9-10%), aceite esencial (0,1-0,3%) es rico en cariofileno, nerolidiol, β -bisaboleno, aromadendreno, p-selineno, α -pineno y 1,8-cineol; triterpenoides (ácido guajavanoico, obtusinina, ácido gorenshico), ácido oleánico, ácido ursólico, ácido catecólico, ácido guayavólico, ácido malísico, ácido elágico, β -sitosterol, flavonoides (avicularina, quercetina-3-O- β -d-glucósido, quercetina-3-O- α -L-ramnósido y quercetina-3-O-gentiobiosido, quercetina-3-O- α -arabinopiranosido=guayaverina; morin-3-O- α -L-lixopiranosido).²⁴

Raíz: están presentes los taninos (10-20%), leucoantocianidinas, esteroides, cumarinas (amritósidos, ácido gálico).²⁴

Flor: se encuentran las cumarinas, flavonoides (guayaverina, avicularina, quercetina, quercetina-3-arabinósido), ácido oleánico (triterpeno).²⁴

Fruto: se encuentran el ácido cinámico (0.4mg/k), ácido-3-hexenoico (0,2mg/k), polifenoles, taninos, terpenos, glucósidos esteroidales (saponinas, bufadienólidos, cardenólidos), antraquinonas, pectina (ácido-D-galacturónico, D-galactosa y L-arabinosa) y una mayor cantidad de ácido ascórbico (en ocasiones llega a los 400mg/100g de pulpa).²⁴

Corteza: están presentes los taninos elágicos (12-30%) conformados por casuarinina, estaquicerina, estricnيتينina, hexa-HO-difenilglucosa, casuarina.²⁴

2.1.22 Actividad farmacológica de principios activos

La actividad farmacológica de los principios activos del extracto acuoso de las hojas, en dosis de 50 a 800 mg/kg, vía intraperitoneal, produjo un efecto antiinflamatorio en ratas Wistar y analgésico en ratones Balb/c; (ambos efectos son dosis dependiente).²¹

Por otro lado, se reportó actividad antiinflamatoria, en el modelo de inflamación aguda inducido por carragenina en ratas Wistar.³²

2.1.23 Importancia de los metabolitos secundarios

Existe un gran número de metabolitos secundarios con diversas estructuras químicas en los diferentes géneros vegetales. Hay que enfatizar en la importancia de su gran valor medicinal y su uso en

el tratamiento de enfermedades. Uno de los metabolitos secundarios que presenta diferentes propiedades terapéuticas para la salud humana son los polifenoles, estos han sido considerados como compuestos con gran actividad y capacidad de atraer radicales libres, además que previenen enfermedades como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Con actividades antiinflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica.³³

Los fenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, se presentan más de 8.000 compuestos distintos en diferentes estructuras químicas y actividad. A los fenoles se los considera también como anti nutrientes, por su efecto adverso a los taninos, que son uno de sus componentes mayoritarios sobre la digestibilidad de la proteína.³⁴

Se ha demostrado en un estudio la presencia de fenoles en la guayaba, indicando que se ha encontrado quercetina, leucocianidina, miricetina, apigenina (579.5 mg/kg peso seco), luteolina, kaempferol; compuestos encontrados en las hojas. La pulpa tiene gran cantidad de quercetina libre y conjugada, la yema florar presenta cantidades elevadas de fenoles. La quercetina y la miricetina constituyen los compuestos más importantes de la guayaba por sus altas concentraciones.³⁵

2.1.24 Inflamación

A) Definición

Es un proceso inflamatorio del tejido en respuesta ante una lesión; esta respuesta de protección esta mediada por el sistema inmune de nuestro cuerpo cuando se ha producido el

daño a las células y al tejido vascular por patógenos bacterianos u otro agente lesivo de naturaleza química, física, mecánica o biológica. En la inflamación juntamente se da inicio a unos eventos con la finalidad de determinar la reparación del tejido dañado, por este motivo, es considerado como una respuesta reestructuradora; por este motivo el proceso inflamatorio implica un enorme consumo de energía metabólica.

En algunas ocasiones cuando la inflamación continúa y no resulta la respuesta reparadora, esta se convierte en una inflamación crónica que da paso a un padecimiento de enfermedades degenerativas como artritis, arteriosclerosis y cáncer. En muchas ocasiones suele estar acompañada a una respuesta de fase aguda o generalizada, esta se caracteriza por su mayor duración, un aumento en la infiltración de células polimorfonucleares, destrucción del tejido conjuntivo y para el proceso de reparación consta de la propagación de vasos sanguíneos y la producción de fibrosis. Los signos que se presentan en la inflamación están determinados por un cuadro clínico como la sensación de incomodidad, alteración del perfil de las proteínas plasmáticas, fiebre y diversos elementos implicados como células circulantes. La inflamación aguda local en particular induce a una reacción biológica que podría ser generalizada llamada «síndrome de respuesta inflamatoria sistémica» que en escena produciría reacciones que no podrían ser controladas originando la llamada «inflamación maligna», lo que traería como consecuencia a un fracaso funcional de todos los órganos y sistemas de nuestro cuerpo generando un fracaso multiorgánico y como consecuencia la muerte del individuo.³⁶

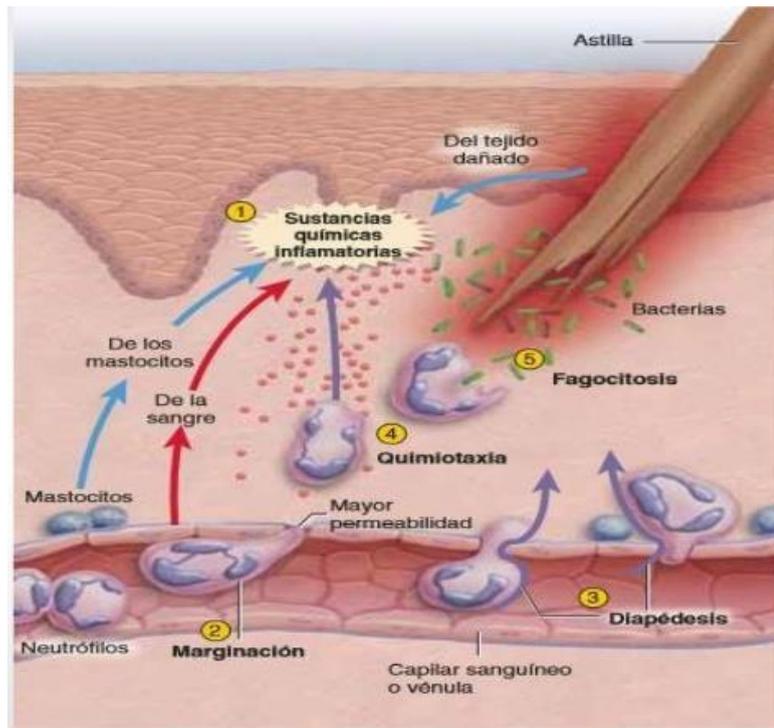


Figura 1. Proceso de inflamación

B) Fases de la inflamación

De manera reducida podemos fragmentar la inflamación en cinco períodos:

1. Liberación de mediadores. Son moléculas y gran mayoría de ellas, de organización elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la acción de determinados estímulos.
2. Efecto de los mediadores. Al ser liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.
3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Estas provienen en gran mayoría de la sangre, aunque en ocasiones de la misma manera salen de zonas próximas al foco inflamatorio.

4. Regulación del proceso inflamatorio. Como se comprende la mayoría de las respuestas inmunitarias, el fenómeno inflamatorio está comprendida por una serie de componentes inhibidores enfocados a concluir o balancear el proceso.
5. Reparación. Fase instituida por fenómenos que van a establecer la regeneración total o parcial de los tejidos dañados por el agente lesivo o por la propia respuesta inflamatoria.³⁷

C) Mastocito

Los mastocitos promueven una amplia gama de respuestas inflamatorias localizadas y sistémicas. Su implicación en reacciones inflamatorias inmediatas y crónicas en sitios locales y distales apunta a una capacidad inmunorreguladora extraordinariamente poderosa con versatilidad espacial y temporal. Los mastocitos se encuentran preferentemente cerca de vasos vasculares y linfáticos. Al activarse, experimentan una respuesta secretora bifásica que implica la liberación rápida de mediadores vasoactivos prealmacenados seguidos por los productos sintetizados de novo. Muchas acciones de los mastocitos están relacionadas con su capacidad para regular el flujo y la permeabilidad vascular y para la incorporación de diversas células inflamatorias de la vasculatura en los espacios inflamatorios. Estos mediadores a menudo trabajan de manera aditiva y logran sus efectos inflamatorios localmente al actuar directamente sobre el endotelio vascular y linfático, pero también pueden afectar los sitios distales. El papel central del eje de las células mastocitos endoteliales en la homeostasis inmunitaria se enfatiza por el hecho de que algunos de los

tratamientos actuales más eficaces para los trastornos inflamatorios están dirigidos a interferir con esta interacción.³⁸

D) Mediadores químicos

1. Mediadores de origen celular:

➤ Mediadores preformados en gránulos secretores:

Estos gránulos son sintetizados en el interior de los gránulos de los mastocitos para que después estos sean secretados en los tejidos dañados en el foco inflamatorio. Las aminas vasoactivas constituyentes son la histamina y serotonina, estas son liberadas al inicio de la inflamación. La histamina, es un mediador de origen celular formado en el interior de los mastocitos y que están en el tejido conectivo adyacente a los vasos sanguíneos, conjuntamente con los basófilos y plaquetas de la sangre.³⁹

Este mediador se libera por degranulación en respuesta a:

- a. lesión física (frio o calor);
- b. reacciones alérgicas,
- c. Liberación de fragmentos del complemento denominados anafilotoxinas (C3a y C5a)
- d. proteínas liberadoras de histamina derivadas de los leucocitos,
- e. neuropéptidos y
- f. citocinas (IL-1, IL-8).

Asimismo, se tiene en cuenta que las principales funciones de la histamina intervienen en la dilatación de las arteriolas, incrementando la permeabilidad de las vénulas y

estimulando las células endoteliales que se encuentran próximas al sitio de inflamación.³⁹

➤ **Mediadores de nueva síntesis:**

Son moléculas con 20 C que son producidos por el ácido araquidónico tales como: prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas, y son biosintetizados por dos tipos de enzimas: ciclooxigenasa (que forma las prostaglandinas y tromboxanos), lipooxigenasa que origina lipoxinas (para formar los ácidos monohidroeuicoa etranoico y dihidroeuicosatetranoico) y leucotrienos. También se encuentran las prostaglandinas, que proceden de los mastocitos, macrófagos y células endoteliales que participan en las reacciones vasculares y sistémicas de la inflamación, estas se forman por la acción de dos ciclooxigenasas, COX-1 que es la forma constitutiva puesto que esta se encuentra en todas las células del organismo y la COX-2 que es la forma inducible debido a moléculas inflamatorias como citoquinas, factores de crecimiento u otros, estas se encuentran en algunas células de nuestro organismo, esta participa completamente iniciando el proceso inflamatorio; las prostaglandinas más importantes producidas por estas enzimas en la inflamación son las:

- PGE2, PGD2: que induce el vaso y broncodilatación, inhiben además la función de las células inflamatorias.
- PGF2 α : participando en el estímulo del vaso y broncoconstricción.
- PGI2: que además del vaso y broncodilatación, inhibe la función de las células inflamatorias.
- TxA2: induce vasoconstricción.³⁹

2. Mediadores de origen plasmático

Estos mediadores son producidos a nivel hepático y aparecen en la circulación cuando ocurre un daño endotelial, tras ser originados estos se muestran como precursores inactivos que se deben activar, a través de una sucesión de escisiones proteolíticas donde van adquirir propiedades biológicas. Asimismo, estos fenómenos de la respuesta inflamatoria son mediados por proteínas plasmáticas que corresponden a tres sistemas afines: el sistema de complemento quien activa la cascada de coagulación, la cinina y los sistemas de coagulación que es responsable de producir la trombina, todo ello induce a un incremento de la permeabilidad vascular.³⁹

2.1.25 Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES), son un grupo de fármacos muy utilizados puesto que tienen muchas propiedades farmacológicas como antiinflamatorias, antipiréticos y analgésicos, es por ello que se usan en el tratamiento del dolor y la inflamación, además son útiles en enfermedades con proceso inflamatorias degenerativas, asimismo en nuestra actualidad ha mostrado tener efecto de prevención del cáncer de colon. En la población su uso es muy extendido, con frecuencia tiene un alto nivel de prescripción y como también se consiguen sin prescripción médica, esto ocasiona a que haya un incremento de casos de riesgo de aparición de reacciones adversas.⁴⁰

Todos los compuestos de esta categoría, que incluyen la clase de inhibidores con una alta selectividad a la COX-2, comprenden un grupo químicamente heterogéneo de sustancias, a menudo sin relación química alguna (aunque muchos de ellos son ácidos

orgánicos), pero que esta complejidad le concede propiedades farmacocinéticas, a pesar de ello, participan en algunas acciones terapéuticas como aliviar el dolor, la fiebre, la inflamación, así como en la presencia de los efectos adversos.⁴¹

➤ **Mecanismo de acción.**

La importante acción terapéutica de los AINES esta mediada por su capacidad de inhibición frente a la síntesis de prostaglandinas.

La primera isoenzima en la vía de síntesis de dichos intermediarios es la sintasa de prostaglandina G/H, llamada también ciclooxigenasa o COX, enzima que convierte el ácido araquidónico (AA) que se encuentra en la membrana produciendo los productos intermediarios inestables PGG₂ y PGH₂ esta experimenta otros cambios posteriores en su trayecto produciendo las prostaciclina como PGD₂, PGE₂, PGF₂, PGI₂, y por ultimo culminan con la producción de tromboxano A₂ (TXA₂).⁴²

2.1.26 Diclofenaco

El diclofenaco deriva de un ácido orgánico débil como el ácido fenilacético, es un poderoso fármaco y se utiliza ampliamente como analgésicas y antipiréticas, asimismo en el tratamiento de enfermedades con proceso degenerativo, en cuanto a su farmacocinética esta se absorbe de manera rápida y completa; en el plasma sanguíneo alcanza concentraciones máximas en un tiempo de 2 a 3 horas. El efecto de primer paso es de 50 %; esta se une largamente a las proteínas plasmáticas en un 99 % y su tiempo de vida media en el plasma sanguíneo es de unas 2 horas. Se acumulan en el líquido sinovial y su metabolismo se da en el

hígado por acción de la isoenzima del citocromo P-450, el para 4-hidroxiclofenaco es el metabolito principal del metabolismo de excreción y de otros componentes como grupos hidroxilados. El diclofenaco es relativamente no selectivo como inhibidor de la síntesis de COX.^{43,44}

➤ **Generalidades del diclofenaco**

1. Indicaciones: Dolor, fiebre e inflamación
2. Mecanismo de acción: El ya mencionado para todos los AINES
3. Interacciones: Con A.A.S (ácido acético salicílico) y fenobarbital disminuyen los niveles séricos. Los efectos tóxicos de ciclosporina, digoxina, metotrexato y litio disminuyen al administrarse con diclofenaco.
4. Efectos colaterales: Gastritis, prolonga el tiempo de hemorragia e inhibe la agregación plaquetaria. Riesgo de anemia aplásica o funcionamiento hepático alterado
5. Contraindicaciones: Síndrome de pólipos nasales, angioedema, enfermedad broncoespástica
6. Dosis: 50 - 70 mg cada 8 – 12 horas.⁴³

2.1.27 Glucocorticoides

Estos fármacos son poderosos antiinflamatorios; siguiendo los aspectos fisiológicos estos, son sintetizados por la corteza suprarrenal la que produce toda clase de hormonas esteroideas como: los glucocorticoides; cortisol y corticosterona en la área fasciculada, los mineralocorticoides aldosterona y desoxicorticosterona en la área glomerulosa y las hormonas gonadales dehidroepiandrosterona, androstenodiona y testosterona

en la área reticular todas ellas participan en las diferentes funciones metabólicas de nuestro cuerpo.⁴⁵

➤ **Mecanismo de acción: receptores corticoides**

Los efectos de glucocorticoides se deben a su interacción con dos tipos de receptores nucleares: el receptor glucocorticoide (GR o de tipo II de la antigua nomenclatura) y el mineralocorticoide (MR o de tipo I) presentan una mayor similitud estructural pero diferente distribución en los tejidos y afinidad por los fármacos. Estas tienen una afinidad por el receptor MR y según estudios se demuestra que su afinidad es superior a la que exhibe por el receptor GR; pero mientras el GR se localiza de manera abundante en gran mayoría en las células del organismo, incluso el cerebro, el MR expresa de manera particular en las células epiteliales del colon las glándulas salivales y el colón, y en pocas células no epiteliales de nuestro cerebro y corazón, cabe señalar específicamente que el mecanismo se diferencia en la modificación proteica en la transcripción nuclear de los receptores y por las moléculas que no tiene igual similitud.⁴⁵

➤ **Acciones antiinflamatorias e inmunosupresoras.**

Se sabe que los fármacos como los glucocorticoides poseen efectos potentes y eficaces, ejercen acciones antiinflamatorias a causa de diferentes agentes biológicos, químicos y físicos; estas actúan inhibiendo muchas manifestaciones como signos y síntomas cuando ocurre el proceso de inflamación, así como también las manifestaciones tardías, por lo tanto, actúan disminuyendo la inflamación aguda como en los procesos de cicatrización, proliferación celular y en la inflamación crónica.

2.1.28 Método para la determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

La desnaturalización de las proteínas tisulares es una de las causas bien documentadas en enfermedades inflamatorias y artríticas. La producción de autoantígenos en ciertas enfermedades artríticas puede deberse a la desnaturalización de proteínas *in vivo*. Al desnaturalizarse la albúmina esta genera una cierta viscosidad en la solución (precipitación de la albúmina) y al medir la absorbancia disminuye la exposición de los grupos funcionales cromóforos. En la estabilidad (antidesnaturalización) de la albúmina hay una mayor exposición de los grupos funcionales cromóforos y al medir la absorbancia estas medirán la cantidad de luz absorbida en la albúmina estable, esto indica el aumento de la medida de la absorbancia; si los extractos naturales disminuyen la desnaturalización de proteínas hay un aumento en la exposición de grupos funcionales cromofóros estables, por lo tanto la absorbancia es mayor, puesto que hay menor desnaturalización de proteínas, mayor estabilización y mayor actividad antiinflamatorio.^{46,47}

Así mismo esta es la razón principal para proponer el uso de los efectos de la anti desnaturalización (estabilización) *in vitro* de la albúmina sérica bovina (inmunogénica) tratada con calor como ensayo. Cuando la albúmina de suero bovino es calentada y sometida a un proceso de desnaturalización, expresa antígenos en relación con la reacción hipersensibilidad de tipo III, relacionada a su vez con enfermedades tales como la enfermedad del suero, la glomerulonefritis, la artritis reumatoide, y el lupus sistémico y eritematoso. De este modo, el ensayo que aquí proponemos debe ser aplicable al descubrimiento de medicamentos para el tratamiento de las enfermedades anteriormente mencionadas y

otras, una vez que los agentes biológicos con propiedades terapéuticas estabilicen la desnaturalización de proteínas.⁴⁸

2.1.2.9 Extractos

A) Definición

Son preparados vegetales que se obtienen por concentración parcial o total de solventes con propiedades extractivas, por medio de la evaporación del disolvente.²⁴

Las preparaciones de los extractos por lo general son de color oscuro y de aspecto fino, liso y transparente. Los extractos de color verdoso son elaborados usando solo las hojas de una sola planta, y esa coloración es debido a la presencia de clorofila. Sin embargo, los extractos que son preparados de las flores, son oscuros al comienzo, pero luego se van aclarando debido a que la clorofila está tiene de oxidarse.²⁴

Existen importantes métodos para la obtención de extractos de plantas como la maceración, percolación y soxhlet, sin embargo, los que son utilizados con mayor frecuencia son la maceración y la percolación.²⁴

Se tiene en cuenta que la elección del disolvente está en relación de la droga y de la solubilidad de los metabolitos activos.²⁴

Hoy en día se puede distinguir diferentes tipos de extractos según la concentración del principio activo en función a la droga original y según su consistencia.²⁴

B) Tipos de extractos

➤ Extractos fluidos

Son extractos propiamente dichos, son preparados líquidos de extracción que se obtienen en la extracción de drogas. Como líquidos de extracción pueden utilizarse mezclas etanol – agua, que pueden contener determinados aditivos, constituyendo los principales métodos de extracción la percolación y la maceración.²⁴

Los extractos fluidos se alteran fácilmente en contacto con la luz y el aire. Son muy usados para obtener formas líquidas (jarabes, gotas, elixires, etc.) ya que se manipulan y dosifican con facilidad.²⁴

➤ Extractos blandos

Son preparados altamente viscosos o semisólidos que se obtienen de extractos de drogas por evaporación del líquido de extracción. Solamente se encuentra el extracto espeso de regaliz.²⁴

Este tipo de extractos son poco estables y por su consistencia resultan difíciles de manipular, por lo que en la actualidad ya no se usan.²⁴

➤ Extractos secos

Son preparados pulverizados, que se preparan de extractos de drogas por evaporación del líquido del extracto, así podemos obtenerlos a través de la eliminación del líquido

extractivo (generalmente alcohol o mezcla hidroalcohólica), hasta sequedad mediante evaporación continua y controlada, no siendo ello posible sin la utilización de baño maría debido a la inminente carbonización del extracto, para esto se utiliza un equipo eléctrico denominado rotavapor, utilizado en laboratorios dedicados a la investigación fitoquímica. Consiste en un balón en donde se deposita el extracto y esta gira posteriormente dentro de un baño de agua a velocidad continua y temperatura controlada evitando así el peligro de carbonización del líquido extractivo.²⁴

Contienen buena concentración de principios activos y son preparados bastante estables (aunque en muchas ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación que se pueden utilizar incluso para preparar tinturas, extractos fluidos, etc.²⁴

2.1.3 Definición de términos

➤ Absorbancia

Cuando un cuerpo es sometido a un haz de luz a una determinada longitud de onda, este haz de luz atraviesa sobre un cuerpo transparente, una cantidad de la luz se absorbe y la otra cantidad del haz de luz restante traspasa el cuerpo. Entonces cuando un cuerpo absorbe una mayor cantidad de luz, mayor es el valor de su absorbancia y menor es la cantidad de luz transmitida.⁴⁹

➤ Albúmina

Proteína animal y vegetal, constituyente principal de la clara de huevo, plasma sanguíneo y linfático.⁵⁰

➤ **Antiinflamatorio**

Es toda sustancia activa que actúa previniendo o disminuyendo la inflamación en los tejidos.⁵⁰

➤ **Desnaturalización de proteínas**

Pérdida de la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas por efecto térmico u otras causas.⁵⁰

➤ **Diclofenaco sódico**

Es un fármaco antiinflamatorio no esteroide que posee actividades analgésicas, antiinflamatorias, y antipiréticas. Se usa para tratar enfermedades degenerativas. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición no selectiva de la isoenzima ciclooxigenasa.⁵¹

➤ **Espectrofotómetro**

Es un instrumento utilizado para determinar a qué longitud de onda la muestra absorbe la luz y la intensidad de la absorción. Consisten de una fuente de luz, un selector de longitud de onda, un contenedor transparente para contener la muestra, un detector de luz y el Medidor.⁵²

➤ **Extracto**

La USP (United States Pharmacopeia) las define como extractos vegetales que se preparan por concentración de productos de origen vegetal frescas o secas, empleando solventes apropiados que facilite la separación de los metabolitos activos y la evaporación de la misma.⁵³

➤ **Inflamación**

Consiste en la respuesta de nuestro sistema inmunológico ante una lesión o infección ocasionada por agentes biológicos, químicos o físicos.³⁹

➤ **Inhibición**

Es la acción y efecto de inhibir o inhibirse.⁵⁴

➤ **In vitro**

Es cuando los procedimientos experimentales se realizan en un laboratorio.⁵⁵

➤ **Metabolitos secundarios**

Son compuestos bioactivos producidos por las plantas por distintas vías metabólicas, actúan como mecanismo de defensa, crecimiento y en la supervivencia de las plantas, poseen la capacidad de producir actividades farmacológicas en el ser humano, por lo tanto, son usadas con fines terapéuticos.⁵⁶

➤ ***Psidium guajava L.***

Especie que pertenece a la familia Mirtaceae, se distribuye en zonas tropicales de América Latina, su fruto tiene forma de una pera, son de color amarillo y verde, la pulpa de color rosado o amarillo, esta tiene pequeñas semillas y de un aroma agradable.

CAPÍTULO III

PRESENTACIÓN, INTERPRETACIÓN ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Presentación de resultados

Tabla N° 1. Prueba de solubilidad del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”

Solventes	Solubilidad
Agua destilada	-
Metanol	+++
Etanol de 70°	+++
Acetona	++
Éter etílico	+
Éter de petróleo	-
Cloroformo	+
Benceno	+
Acetato de etilo	+

Leyenda:

Muy soluble (+++); Soluble (++); Poco soluble (+); Insoluble (-)

Tabla N° 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”

Metabolito secundario	Prueba	Resultado
Carbohidratos	Fehling	+++
	Barfoed	++
	Benedict	+
Fenoles	Acetato de plomo	+++
Taninos	Cloruro férrico	+++
Flavonoides	Hidróxido de amonio	+++
Saponinas	Agua destilada	+++
Glucósidos	Cloroformo y amoníaco	+
Terpenoides	Cloroformo y H ₂ SO ₄ (cc)	++
Esteroides		+++
Alcaloides	Mayer	++
	Wagner	++
	Dragendorff	+++
Cumarinas	Hidroxido de sodio	+
Quinonas	H ₂ SO ₄ (cc)	-

Leyenda:

Presencia abundante (+++); Presencia moderada (++); Presencia escasa (+); Presencia no detectable (-)

Tabla N° 3. Medidas de absorbancia de las diferentes concentraciones del extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” y del diclofenaco sódico

Concentraciones de las muestras de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba”	Abs (nm)	\bar{X}	Concentraciones del fármaco de referencia, diclofenaco sódico	Abs (nm)	\bar{X}
31,25 µg/ml	0.346	0.365	31,25 µg/ml	0.247	0.254
	0.358			0.253	
	0.356			0.262	
	0.362			0.257	
	0.401			0.252	
62.5 µg/ml	0.469	0.465	62.5 µg/ml	0.281	0.288
	0.457			0.292	
	0.465			0.286	
	0.466			0.291	
	0.469			0.288	
125 µg/ml	0.568	0.572	125 µg/ml	0.397	0.400
	0.575			0.391	
	0.572			0.403	
	0.571			0.409	
	0.576			0.399	
250 µg/ml	0.775	0.772	250 µg/ml	0.651	0.654
	0.776			0.655	
	0.769			0.654	
	0.771			0.652	
	0.768			0.656	
500 µg/ml	1.209	1.213	500 µg/ml	1.190	1.193
	1.212			1.202	
	1.213			1.191	
	1.216			1.192	
	1.215			1.189	
1000 µg/ml	2.192	2.191	1000 µg/ml	1.595	1.599
	2.185			1.598	
	2.189			1.602	
	2.196			1.599	
	2.194			1.603	
Control			Abs		
Alcohol de 70°			0.046		
Valores de la medida de la absorbancia y el promedio de las diferentes concentraciones de las muestras en estudio.					

Tabla N° 4. Actividad antiinflamatoria *in vitro* del *Psidium guajava L.* “guayaba” y diclofenaco sódico contra la desnaturalización de proteínas

Muestra de prueba	Conc. (µg/ml)	% Inhibición					\bar{X}
<i>Psidium guajava L.</i> "guayaba"	31,25	652.173913	678.26087	673.913043	686.956522	771.73913	692.608696
	62,5	919.565217	893.478261	910.869565	913.043478	919.565217	911.304348
	125	1134.78261	1150	1143.47826	1141.30435	1152.17391	1144.34783
	250	1584.78261	1586.95652	1571.73913	1576.08696	1569.56522	1577.82609
	500	2528.26087	2534.78261	2536.95652	2543.47826	2541.30435	2536.95652
	1000	4665.21739	4650	4658.69565	4673.91304	4669.56522	4663.47826
Diclofenaco sódico	31,25	436.956522	450	469.565217	458.695652	447.826087	452.608696
	62,5	510.869565	534.782609	521.73913	532.608696	526.086957	525.217391
	125	763.043478	750	776.086957	789.130435	767.391304	769.130435
	250	1315.21739	1323.91304	1321.73913	1317.3913	1326.08696	1320.86957
	500	2486.95652	2513.04348	2489.13043	2491.30435	2484.78261	2493.04348
	1000	3367.3913	3373.91304	3382.6087	3376.08696	3384.78261	3376.95652

Valores del porcentaje de inhibición de la desnaturalización de proteínas de las diferentes concentraciones de la muestra en estudio.

Grafico N°1. Relación de los valores del porcentaje de Inhibición de la desnaturalización de proteínas del *Psidium guajava L.* y Diclofenaco Sódico

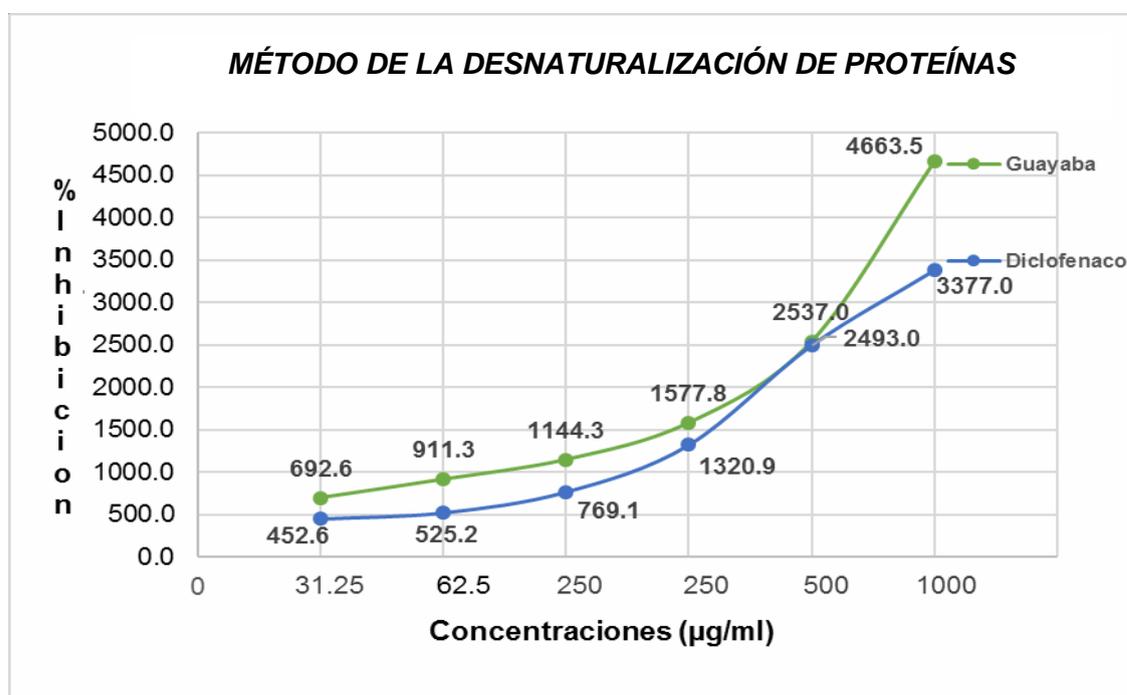


Tabla 5. Estadística descriptiva de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	5	692,6087	46,05413	20,59603	635,4249	749,7925	652,17	771,74
2,00	5	911,3043	10,69424	4,78261	898,0257	924,5830	893,48	919,57
3,00	5	1144,3478	6,97687	3,12015	1135,6849	1153,0108	1134,78	1152,17
4,00	5	1577,8261	7,74719	3,46465	1568,2067	1587,4455	1569,57	1586,96
5,00	5	2536,9565	5,95351	2,66249	2529,5643	2544,3488	2528,26	2543,48
6,00	5	4663,4783	9,40076	4,20415	4651,8057	4675,1508	4650,00	4673,91
Total	30	1921,0870	1386,63268	253,16333	1403,3098	2438,8641	652,17	4673,91

LEYENDA:

- 1 = Extracto seco de guayaba 31,25 ug/ml
- 2 = Extracto seco de guayaba 62,5 ug/ml
- 3 = Extracto seco de guayaba 125 ug/ml
- 4 = Extracto seco de guayaba 250 ug/ml
- 5 = Extracto seco de guayaba 500 ug/ml
- 6 = Extracto seco de guayaba 1000 ug/ml

En la tabla N° 5, podemos observar que los valores de las medias del porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones van incrementando, dichos valores se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un

error relativo del 5% por ello ningún dato se excluye, por ende se aplicó estadística inferencial para comparar y determinar si existen diferencias significativas de las diferencias de medias de cada extracto estudiado en la actividad antiinflamatoria *in vitro*.

Tabla 6. Prueba de Levene de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,390	5	24	,019

DONDE:

H₀= Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P < 0.05$)

H₁= Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P > 0.05$)

Tabla N°6, en esta se observa la aplicación de la prueba de homogeneidad de varianzas; esta prueba estadística nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente. En este cuadro observamos que $0.019 < 0.05$, por lo tanto, las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas por ello se rechaza la hipótesis alterna, esta prueba válida mi hipótesis nula puesto que se demuestra la eficacia que presentan los extractos secos en las diferentes concentraciones, por lo tanto, esto indica que existe diferencia significativa entre los grupos tratados. Es importante el resultado ya que esto nos permitió elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que en este caso será la prueba ANNOVA ONE WAY o de un factor.

Tabla 7. Prueba de Anova de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba"

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	55749884,209	5	11149976,842	27108,408	,000
Dentro de grupos	9871,456	24	411,311		
Total	55759755,664	29			

DONDE:

H₀= No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H₁= Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

Tabla N 7, en esta se observa la aplicación la prueba ANOVA One Way o de un factor; esta prueba estadística nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de las diferentes concentraciones del extracto seco. Al observar el resultado $0.00 < 0.05$ se rechaza la hipótesis nula y se afirma la hipótesis alterna, puesto que existe diferencia significativa en la actividad antiinflamatoria en relación a las concentraciones del extractos seco; es decir la comparación de los promedios obtenidos demuestran que las diferentes concentraciones del extracto seco presentan actividad antiinflamatoria, estos son diferenciados puesto que a medida que aumenta las concentraciones se obtiene una mayor actividad antiinflamatoria, esto se verificó realizando la prueba de post hoc TUKEY.

Tabla 8. Prueba de Tukey: comparaciones múltiples de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba"

(I) CONCENTRACIONES	(J) CONCENTRACIONES	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	-218,69565*	12,82670	,000	-258,3549	-179,0364
	3,00	-451,73913*	12,82670	,000	-491,3984	-412,0799
	4,00	-885,21739*	12,82670	,000	-924,8767	-845,5581
	5,00	-1844,34783*	12,82670	,000	-1884,0071	-1804,6885
	6,00	-3970,86956*	12,82670	,000	-4010,5288	-3931,2103
2,00	1,00	218,69565*	12,82670	,000	179,0364	258,3549
	3,00	-233,04348*	12,82670	,000	-272,7028	-193,3842
	4,00	-666,52174*	12,82670	,000	-706,1810	-626,8625
	5,00	-1625,65217*	12,82670	,000	-1665,3115	-1585,9929
	6,00	-3752,17391*	12,82670	,000	-3791,8332	-3712,5146
3,00	1,00	451,73913*	12,82670	,000	412,0799	491,3984
	2,00	233,04348*	12,82670	,000	193,3842	272,7028
	4,00	-433,47826*	12,82670	,000	-473,1375	-393,8190
	5,00	-1392,60870*	12,82670	,000	-1432,2680	-1352,9494
	6,00	-3519,13043*	12,82670	,000	-3558,7897	-3479,4712
4,00	1,00	885,21739*	12,82670	,000	845,5581	924,8767
	2,00	666,52174*	12,82670	,000	626,8625	706,1810
	3,00	433,47826*	12,82670	,000	393,8190	473,1375
	5,00	-959,13044*	12,82670	,000	-998,7897	-919,4712
	6,00	-3085,65217*	12,82670	,000	-3125,3115	-3045,9929
5,00	1,00	1844,34783*	12,82670	,000	1804,6885	1884,0071
	2,00	1625,65217*	12,82670	,000	1585,9929	1665,3115
	3,00	1392,60870*	12,82670	,000	1352,9494	1432,2680
	4,00	959,13044*	12,82670	,000	919,4712	998,7897
	6,00	-2126,52174*	12,82670	,000	-2166,1810	-2086,8625
6,00	1,00	3970,86956*	12,82670	,000	3931,2103	4010,5288
	2,00	3752,17391*	12,82670	,000	3712,5146	3791,8332
	3,00	3519,13043*	12,82670	,000	3479,4712	3558,7897
	4,00	3085,65217*	12,82670	,000	3045,9929	3125,3115
	5,00	2126,52174*	12,82670	,000	2086,8625	2166,1810

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

LEYENDA:

- 1 = Extracto seco de guayaba 31,25 ug/ml
- 2 = Extracto seco de guayaba 62,5 ug/ml
- 3 = Extracto seco de guayaba 125 ug/ml
- 4 = Extracto seco de guayaba 250 ug/ml
- 5 = Extracto seco de guayaba 500 ug/ml
- 6 = Extracto seco de guayaba 1000 ug/ml

Tabla N° 8, en esta se observa la aplicación de la prueba de TUKEY; esta prueba estadística nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente heterogéneas, esto permite verificar que los tratamientos aplicados son diferentes a los demás. En la tabla adjunta se determina que existen diferencias significativas; es decir que la actividad antiinflamatoria obtenida a una concentración determinada no es igual a la actividad antiinflamatoria de las demás concentraciones, lo que indica que son diferentes entre sí, por ello en el cuadro de subconjuntos de datos se expondrá el resumen de la prueba de TUKEY.

Tabla 9. Prueba de Tukey: subconjunto de datos de la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”

CONCENTRACIONES	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1,00	5	692,6087					
2,00	5		911,3043				
3,00	5			1144,3478			
4,00	5				1577,8261		
5,00	5					2536,9565	
6,00	5						4663,4783
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

LEYENDA:

- 1 = Extracto seco de guayaba 31,25 ug/ml
- 2 = Extracto seco de guayaba 62,5 ug/ml
- 3 = Extracto seco de guayaba 125 ug/ml
- 4 = Extracto seco de guayaba 250 ug/ml
- 5 = Extracto seco de guayaba 500 ug/ml
- 6 = Extracto seco de guayaba 1000 ug/ml

En la tabla N° 9, se observa que los tratamientos aplicados de las medidas son significativamente diferentes entre sí, es decir todos los extractos secos presentan diferencias en la actividad antiinflamatoria. Esto permitió concluir que el extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” de 1000 ug/ml presenta la mayor actividad antiinflamatorio y que estadísticamente esta significancia será diferente a las demás actividades antiinflamatorias presentes.

Tabla 10. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y el diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 31,25 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	452,6087	12,23973	5,47377
	2,00	5	692,6087	46,05413	20,59603

LEYENDA:

1 = Porcentaje de inhibición del diclofenaco sódico de 31,25 ug/ml

2 = Porcentaje de inhibición del extracto seco de 31,25 ug/ml

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	GI	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	2,759	,135	-11,262	8	,000	-240,00000	21,31100	-289,14326	-190,85674
INHIBICION No se asumen varianzas iguales			-11,262	4,562	,000	-240,00000	21,31100	-296,40102	-183,59898

DONDE:

H_0 = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H_1 = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 10, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p\ 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 31,25 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

Tabla 11. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 62,5 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	525,2174	9,55038	4,27106
	2,00	5	911,3043	10,69424	4,78261

LEYENDA:

1 = Porcentaje de inhibición de diclofenaco sódico de 62,5 ug/ml

2 = Porcentaje de inhibición del extracto seco de guayaba de 62,5 ug/ml

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	,002	,965	-60,212	8	,000	-386,08696	6,41212	-400,87334	-371,30058
INHIBICION No se asumen varianzas iguales			-60,212	7,900	,000	-386,08696	6,41212	-400,90606	-371,26785

DONDE:

H₀ = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H₁ = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 11, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p\ 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 62,5 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

Tabla 12. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 125 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	769,1304	14,61542	6,53622
	2,00	5	1144,3478	6,97687	3,12015

LEYENDA:

1 = porcentaje de inhibición de diclofenaco sódico de 125 ug/ml

2 = porcentaje de inhibición del extracto seco de guayaba de 125 ug/ml

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	1,803	,216	-51,806	8	,000	-375,21739	7,24275	-391,91921	-358,51557
INHIBICION No se asumen varianzas iguales			-51,806	5,733	,000	-375,21739	7,24275	-393,14176	-357,29302

DONDE:

H_0 = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H_1 = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 12, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p\ 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 125 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

Tabla 13. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 250 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	1320,8696	4,50792	2,01600
	2,00	5	1577,8261	7,74719	3,46465

LEYENDA:

1 = Porcentaje de inhibición de diclofenaco sódico de 250 ug/ml

2 = Porcentaje de inhibición del extracto seco de guayaba de 250 ug/ml

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	GI	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
INHIBICION Se asumen varianzas iguales	3,251	,109	-64,103	8	,000	-256,95652	4,00850	-266,20013	-247,71291
No se asumen varianzas iguales			-64,103	6,430	,000	-256,95652	4,00850	-266,60811	-247,30493

DONDE:

H₀ = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H₁ = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 13, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p \ 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 250 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

Tabla 14. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 500 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	2493,0435	11,44148	5,11678
	2,00	5	2536,9565	5,95351	2,66249

LEYENDA:

1 = Porcentaje de inhibición de diclofenaco sódico de 500 ug/ml

2 = Porcentaje de inhibición del extracto seco de guayaba de 500 ug/ml

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	1,063	,333	-7,613	8	,000	-43,91304	5,76804	-57,21417	-30,61191
INHIBICION No se asumen varianzas iguales			-7,613	6,018	,000	-43,91304	5,76804	-58,01664	-29,80944

DONDE:

H_0 = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H_1 = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 14, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p\ 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 500 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

Tabla 15. Prueba T de Student de la actividad antiinflamatoria *in vitro* entre el extracto seco de guayaba y diclofenaco sódico, ambos a una concentración de 1000 ug/ml

	CONCENTRACIÓN	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INHIBICION	1,00	5	3376,9565	6,97687	3,12015
	2,00	5	4663,4783	9,40076	4,20415

LEYENDA:

1 = Porcentaje de inhibición de diclofenaco sódico de 1000 ug/ml

2 = Porcentaje de inhibición del extracto seco de guayaba de 1000 ug/ml

		Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
INHIBICION	Se asumen varianzas iguales	,538	,484	-245,732	8	,000	-1286,52174	5,23548	-1298,59477	-1274,44871
	No se asumen varianzas iguales			-245,732	7,381	,000	-1286,52174	5,23548	-1298,77338	-1274,27010

DONDE:

H₀ = Existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P < 0.05$)

H₁ = No existe diferencia significativa en las actividades antiinflamatorias ($P > 0.05$)

En la tabla N° 15, observamos la comparación de ambos promedios, al ser $p = 0.00 < 0.05$ esto muestra que los promedios presentan diferencias significativas, lo cual se afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco puesto que este último presenta un mayor porcentaje de inhibición. Se concluye que el extracto seco de guayaba de 1000 ug/ml presenta la mejor actividad antiinflamatoria con respecto al diclofenaco sódico a la misma concentración.

3.2 Interpretación, análisis y discusión de resultados

El presente estudio realizó la prueba de solubilidad, con el propósito de encontrar el disolvente ideal y efectuar el estudio; en la tabla N° 1 se observa que el extracto seco es insoluble en agua y en éter de petróleo; muy soluble en solventes polares como metanol y etanol 70°; solubles y poco solubles a solventes apolares como acetona, éter etílico, cloroformo, benceno y acetato de etilo. Esto nos permite determinar que los fitoconstituyentes del extracto seco de *Psidium guajava* L. “guayaba” son de naturaleza polar y apolar, por ello tienen una elevada solubilidad en compuestos polares y apolares. Oviedo *et al*⁶⁷, deduce que los metabolitos secundarios del extracto de “SAHUINTO” presentan naturaleza de polaridad intermedia, encontrando una óptima solubilidad para la realización de su ensayo.

Asimismo, se realizó el análisis fitoquímico, con el fin de identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto; en la tabla N° 2 se observa que el extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* L. “guayaba”, presenta abundante cantidad de fenoles, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides. Según Joseph *et al*⁶⁸, las actividades terapéuticas de *P. guajava* L. se le atribuye a estos fitoquímicos presentes en las hojas, asimismo informa que son ricas en flavonoides especialmente derivados de la quercetina. Metwally *et al*⁶⁹, indica que a la quercetina se le atribuye a la actividad antiinflamatoria. Asimismo, estudios reportan que los flavonoides poseen otras actividades biológicas como antioxidante, antiapoptótico, antienvjecimiento, anticarcinogénico, y antiinflamatorio.²⁹ Choudhury *et al*⁶⁰, menciona que los compuestos fenólicos también contribuyen en las actividades antiinflamatorias. Estos constituyentes fitoquímicos podrían ser responsables de dicha actividad.

El potencial de los extractos etanólicos de plantas evitó los problemas éticos asociados con el uso de animales en la investigación farmacológica

experimental, es por ello que hay métodos éticos adecuados disponibles y que podrían investigarse.^{3,61}

Por lo tanto, el presente estudio seleccionó el método de la desnaturalización de proteínas (albúmina de huevo) para determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”.

La desnaturalización de proteínas se ha descrito como un proceso patológico que implica la pérdida de configuración dando como resultado la pérdida de la funcionalidad³. Opie *et al*⁴⁶, indica que la desnaturalización de las proteínas tisulares es una de las causas bien documentadas de enfermedades inflamatorias y artríticas. Asimismo, la producción de antígenos automáticos en ciertas enfermedades inflamatorias puede deberse a la desnaturalización de las proteínas in vivo.⁴⁷ Grant *et al*⁶², ha comprobado de que varios fármacos antiinflamatorios han mostrado capacidad dependiente de la dosis para inhibir desnaturalización de proteínas inducida térmicamente. Mizushima *et al*⁶³, indica que la protección contra la desnaturalización de proteínas, fue el principal mecanismo de acción de los AINES, antes de que Vane *et al*⁶⁴, informe el descubrimiento de su efecto inhibitorio sobre la ciclooxigenasa.

Kariawasam *et al*⁶⁹, menciona que el estudio de la desnaturalización de albúmina de huevo inducida por calor está siendo ampliamente usado, hay pruebas validadas, fiables y sensibles para determinar el potencial antiinflamatorio in vitro de los farmacóforos naturales. De esta manera, se realizan investigaciones utilizando el método para validar la búsqueda de agentes terapéuticos antiinflamatorios de fuentes naturales que puedan prevenir estos cambios e inhibir la desnaturalización de las proteínas, esto podría ser de mucho interés al campo farmacéutico para el desarrollo de fitofármacos con un valor terapéutico potencial.

Según los resultados obtenidos en la tabla 3, se observa las medidas de las absorbancias y el incremento que presenta las diferentes concentraciones del extracto seco de la guayaba en relación al diclofenaco sódico, mediante la ecuación ($\% I = 100 \times [Vt/Vc - 1]$) se obtuvo los valores expresados en la tabla 4, en esta se muestra los valores del porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones de del extracto seco de la guayaba y del diclofenaco sódico, estas mostraron una inhibición dependiente de la concentración en la desnaturalización de la proteína (albúmina). Sin embargo, la actividad inhibitoria del diclofenaco sódico fue menor en comparación con el extracto seco de la guayaba. Los incrementos en las absorbancias de las muestras de prueba con respecto al control indican la estabilización de la proteína⁶⁵, es decir, la inhibición de la desnaturalización inducida por el calor es más evidente en el extracto seco que el medicamento de referencia, diclofenaco sódico. El grafico N°1 representa la relación de los porcentajes de inhibición del extracto seco y del diclofenaco sódico y claramente se observa que el extracto seco es la que presenta mejor protección inhibitoria en la desnaturalización de proteínas. Kariawasam *et al*⁹, empleo el método de la desnaturalización de proteínas y evaluó la actividad del extracto acuoso de hojas de la variedad de Sri Lanka de *P. guajava L* y señaló de que el estudio es un hallazgo novedoso.

Según los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición mostrados en la tabla 4, dichos valores se compararon estadísticamente; en la tabla 5, se observa los datos de aplicación de la estadística descriptiva, todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5% por ello ningún dato se excluye.

En la tabla 6, se muestra los datos de aplicación de la prueba de homogeneidad de varianzas y observamos que $0.019 > 0.05$, esto indica la eficacia que presentan los extractos secos en las diferentes

concentraciones en la actividad antiinflamatoria por lo tanto existe diferencia significativa entre los grupos tratados por ello se rechaza la hipótesis alterna. Esto nos permitió elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que en este caso será la prueba ANOVA ONE WAY o de un factor.

En la tabla 7, se observa la aplicación de la prueba ANOVA One Way o de un factor, dando como resultado que $0.00 < 0.05$, se afirmó la hipótesis alterna, es decir, los promedios obtenidos demuestran que las diferentes concentraciones del extracto seco presentan actividad antiinflamatoria y estos son diferenciados puesto que a medida que aumenta las concentraciones se obtiene una mayor actividad antiinflamatoria, esto se verificó realizando la prueba de post hoc TUKEY.

En la tabla 8, se observa los valores de la prueba TUKEY de las comparaciones múltiples y se determinó que la actividad antiinflamatoria obtenida a una concentración determinada no es igual a la actividad antiinflamatoria de las demás concentraciones, lo que indica que son diferentes una de otra, por ello en el cuadro de subconjuntos de datos se expondrá el resumen de la prueba de TUKEY.

En la tabla 9, se observa los valores de la prueba TUKEY de subconjunto de los tratamientos aplicados y se comprobó los extractos secos presentan diferencias en la actividad antiinflamatoria. Esto permitió concluir que el extracto seco de *Psidium guajava* L. "Guayaba" de 1000ug/ml presenta la mayor actividad antiinflamatorio.

En las tablas 10, 11, 12, 13, 14 y 15 se presentan los valores de la prueba T Student y observamos que todos los promedios tienen un valor de $0.00 < 0.05$ esta comparación afirma la hipótesis nula; esto indica que la actividad antiinflamatoria del diclofenaco sódico es distinta al del extracto seco en las concentraciones de 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000µg/ml. Se

concluyó que el extracto seco de guayaba en las concentraciones de 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/ml presentan la mejor actividad antiinflamatoria *in vitro*.

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente estudio se puede comprobar que el extracto seco de guayaba posee una marcada actividad antiinflamatoria contra la desnaturalización de proteínas *in vitro*. Cabe señalar que los experimentos se realizaron a pH 6.4, que representa el pH patológico (6.2 - 6.5), Williams *et al*⁴⁷, ha informado que una de las características de varios fármacos antiinflamatorios no esteroideos es su capacidad para estabilizar (prevenir la desnaturalización) de la albúmina tratada térmicamente al pH fisiológico (pH: 6.2 - 6.5), esto otorgó mayor credibilidad a la elección del método.

Otros estudios han reportado la actividad antiinflamatoria de las hojas de *Psidium guajava L.* en modelos animales experimentales.^{13,66} El presente hallazgo corrobora esta propiedad *in vitro* y dicha actividad antiinflamatoria se le puede atribuir a su alto contenido de flavonoides presentes en las hojas de la guayaba.

Por lo tanto, se sugiere que se realicen futuras investigaciones para identificar que otros agentes fitoterapéuticos presentes en la hoja de la guayaba estarían implicados en la actividad antiinflamatoria.

CAPÍTULO IV

Conclusiones

Al finalizar el estudio de investigación se concluye que:

1. Se determinó que las diferentes concentraciones del extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” poseen actividad antiinflamatoria *in vitro*, esto fue comprobado con pruebas estadísticas descriptivas e inferenciales.
2. El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” en el intervalo de 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ presentaron actividad inhibitoria dependiente de las concentraciones en la desnaturalización de proteínas.
3. El extracto seco de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba” a una concentración de 1000 $\mu\text{g/ml}$ frente al diclofenaco sódico presentó la mayor actividad antiinflamatoria *in vitro* con un porcentaje de inhibición de 4663.5.

Recomendaciones

1. Realizar estudios experimentales posteriores para determinar las características del agente bioactivo responsable de la propiedad antiinflamatoria.
2. Realizar estudios de otras partes de la especie vegetal de *Psidium guajava* L. "guayaba", ya que otras investigaciones permitirán complementar este estudio.
3. Realizar estudios basados en el diseño y elaboración de formas farmacéuticas a partir del extracto seco de las hojas de la especie *Psidium guajava* L. con la finalidad de determinar que la formulación es seguro, eficaz y económico para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias.
4. Continuar estudios con el método análogo de la investigación en las diversas plantas que se encuentran en nuestra provincia y así contribuir con información científica de las propiedades medicinales de plantas.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Arya D, Meena M, Grover N, Patni V. *In vitro* antiinflammatory and antiarthritic activity in methanolic extract of *cocculus hirsutus* (L.) Diels. *In vivo* and *in vitro*. Int J Pharm Sci Res. 2014; 5(5): 1957-1962.
2. Kandikattu K, Bharath R, Venu P, Sunil, K, Ranjith B. Evaluation of antiinflammatory activity of *Canthium parviflorum* by *in vitro* method. Indian J Res Pharm Biotech. 2013; 1(5): 729-730.
3. Sridevi G, Sembulingam K, Muhammed I, Srividya S, Prema S. Evaluation of *in vitro* antiinflammatory activity of *Pergularia daemia*. World J Pharm Res. 2015; 4(6): 1100-1108.
4. Sangeetha G, Vidhyan R. *In vitro* antiinflammatory activity of different parts of *Pedaliium murex* (L.). Int J Herb Med. 2016; 4(3): 31-36.
5. Banerjee S, Chanda A, Adhikari A, Das A, Biswas S. Evaluation of Phytochemical Screening and antiInflammatory activity of leaves and stem of *Mikania scandens* (L.) wild. Ann Med Heth Sci Res. 2014; 4(4):532-536.
6. Adarsh M, Ajay P, Kavitha D, Anurag B. Antidenaturation And antioxidant activities of *Annona Cherimola* *in vitro*. Int J Pharm Bio Sci. 2011; 2(2): 1-6.
7. Nargund S, Murugan V, Nargund L, Hrishekeshevan H. Evaluation of *in vitro* antiinflammatory activity of novel substituted thienol [2,3-d]pyrimidin-4-yl-amine molecules. Ultra Scientist. 2016; 28(1): 11-16.
8. Sarkar A, Tripathi V, Sahu R, Aboulthana W. Evaluation of antiinflammatory and antiarthritis activity of isolated fractions from *Bauhinia purpurea* leaves extracts in rats. UK J Pharm Biosci. 2017; 5(1): 47-58.
9. Martinez M, Molina N, Boucourt E. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). Rev Cub Plant Med. 1997; 2(1): 12-14.
10. Choudhury S, Sharan L, Sinha MP. Phytochemical and antimicrobial screening of *P. guajava* L. leaf extracts against clinically important gastrointestinal pathogens. J Nat Prod Plant Resour. 2012; 2 (4): 524-529.

11. Gutiérrez R, Mitchell S, Solis R. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, photochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacology. 2008; 117(1): 1-27.
12. Kamath J, Rahul N, Ashok C, Mohana S. P. guajava L: A review. Int J Green Pharmacy. 2008; 2(1): 9-12.
13. Muthukuru A, Venukumar C, Reddy R, Lalaiah G, Anusha S, Seshachalam T, *et al.* Study of analgesic and antiinflammatory activity of mixture of solvents extract of *Psidium guajava* leaves. J Globl Treds Pharm. 2014; 5(4): 2272-2278.
14. Kaileh M, Vanden B, Boone E, Essawi E, Haegeman G. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential antiinflammatory and cytotoxic activity. J Ethnopharmacology. 2007; 113(3):510-516.
15. Seo J, Lee S, Elam M, Johnson S, Kang J, Arjmandi B. Study to find the best extraction solvent for use with guava leaves (*P. guajava L.*) for antioxidant efficacy. Food Sci Nutr. 2014; 2(2):174-180.
16. Tripathi K. Essentials of Medical Pharmacology. 5^a. ed. New Delhi: Jaypee Brother's Medical Publishers (P); 2004.
17. Laurence D, Bennett PN. Clinical pharmacology. 7^a .ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1992.
18. Tripathi K. Text book of Medical Pharmacology. 4^a. ed. New Delhi: Jaypee brothers medical publishers (P) ltd; 1998.
19. Chatterjee P, Chandra S, Dey P and Bhattacharya S. Evaluation of antiinflammatory effects of green tea and black tea: A comparative *in vitro* study. J Adv Pharm Technol Res, 2012; 3(2): 136-138.
20. Carrión R. Evaluación de la actividad antioxidante de la guayaba (*Psidium guajava L.*) en tres niveles de altitud de la provincia de Leoncio prado [Tesis para optar el grado de Ingeniero en Industria alimentaria]. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 2008.
21. Ojewole JA. Antiinflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava Linn.* (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2006; 28 (7): 441-446.

22. Jang M, Jeong S, Cho S, Ahn K, Lee J, Yang D, *et al.* Antiinflammatory effects of an ethanolic extract of guava (*Psidium Guajava L.*) Leaves *in vitro* And *in vivo*. J Med Food. 2014; 17(6): 678-685.
23. Muthukuru A, Venukumar C, Siva Kumar Reddy R, Lalaiah G, Anusha S, Seshachalam T, *et al.* Study of analgesic and antiinflammatory activity of mixture of solvents extract of *Psidium Guajava* Leaves. Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences. 2014; 5(4): 2276-2282.
24. Orúe Béjar CA, Rebaza Peñafiel F. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de frutos y hojas de *Psidium guajava* L. “Guayaba” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. [Tesis para optar el título Profesional de Químico-Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2013.
25. Laboratorio de Genómica Viral y Humana Facultad de Medicina UASLP. Preparación de Phosphate Buffered Saline (PBS). [en línea]. Genomica. [actualizado el 22 de abril de 2008; citado el 22 de agosto de 2018] Disponible en: http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell_Buffer_PBS.pdf.
26. Montoya M. Encuentro Científico Internacional 2017 de invierno. [en línea] Eciperu. [citado 2018 Abr 17]. Disponible en: <https://eciperu.files.wordpress.com/2017/07/libro-de-resumenes-del-eci-2017-de-invierno5.pdf>.
27. Acostupa F, Chávez A, Mejía S, Pauta M, Tucunango J. Efecto antiinflamatorio *in vitro* de los extractos etanólicos de cuatro plantas medicinales peruanas. Rev Peru Med Integrativa [en línea], 2017 [citado: 2018 Abr 17]; 2(2): [7p.]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876789/efecto-antiinflamatorio-in-vitro-de-los-extractos-etanolicos-de-_HPPx1xH.pdf.
28. García J, Pariona C, Londoño R. Actividad antiinflamatoria *in vitro* de los polisacáridos sulfatados de *Patallus mollis* extraídos mediante digestión enzimática. Rev Peru Med Integrativa [en línea]. 2017 [citado: 2018 Abr 18]; 2(3): [6 p.]. Disponible en:

http://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876812/actividad-antiinflamatoria-in-vitro-de-los-polisacaridos-sulfat_AIR5Xyx.pdf.

29. Kariawasam K, Pathirana R, Ratnasooriya W, Handunnetti S, Abeysekera W. Phytochemical profile and *in vitro* anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of Sri Lankan variety of *Psidium guajava* L. JP. 2017; 6(4): 22-26.
30. Kabdal M, Singh A. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity on leaves of *Callistemon citrinus* against the denaturation of protein. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2016; 5(12): 761-768.
31. Aldave A, Mostacero J. Botánica farmacéutica. 1ª ed. Lima: Editorial Libertad. 1998.
32. Dutta S, Das S. A study of the anti-inflammatory effect of the leaves of *Psidium guajava* Linn on experimental animal models. Pharmac Res. 2010; 2(5): 313-317.
33. Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Filho J, FettR. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciencia y Tecnología Alimentaria [en línea], 2005 [citado: 2018 Abr 13]; 25(4): [7 p.]. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016
34. Martínez I, Periago M, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. ALAN [en línea], 2000 [citado: 2018 Jun 13]; 50(1): [19 p.]. Disponible en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001
35. Vargas Alvarez D, Soto Hernández M, González Hernández V, Mark Engleman, E., Martínez Garza A. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). Agrociencia [en línea], 2006 [citado: 2018 Jun 13]; 40(1): [7 p.]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/302/30240111.pdf>
36. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature. 2008; 454(7203): 428-435.

37. Bordés R, Martínez M, García E, Guisado R. El Proceso Inflamatorio. Revista de Enfermería [en línea], 2001 [citado: 2018 Abr 16]. Disponible en url:
<https://previa.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm>
38. Kunder C, St John AL, Abraham SN. Mast cell modulation of the vascular and lymphatic endothelium. *Bood*. 2011; 118(20): 5383-5393.
39. Toledo Yupanqui C. Inflamación: Mediadores Químicos. *Rev Act Clin Med* [en línea], 2014 [citado: 2018 Abr 18]; 43: [5 p.]. Disponible en:
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400005&script=sci_arttext
40. Crofford L. Nonsteroidal anti.inflammatory dugs. In: Harris E, Budd R, Firestein G, Genovese M, Sergent J, Ruddy S, Sledge C, editors. *Kelley's Text book of Rheumatology*. 7ª ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 839-858.
41. Grosser E, Garret F. Antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos; farmacoterapia de la gota. En: Brunton L. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 12ª ed. México: McGraw-Hill; 2012. p. 959-1004.
42. Ramirez Ruiz E. Efecto del Ibuprofeno en la magnitud del movimientodentario ortodóntico en ratas. [Tesis para optar el título Profesional de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
43. Díaz M, Alanís A, Gil M. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos. En: Trejo S, editor. *Fundamentos de Farmacología*. 1ª ed. México: Trillas; 2010. p. 57-77.
44. Furrst D, Ulrich R, Prakash S. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos, antireumáticos modificadores de la enfermedad, analgésicos no opioides y fármacos usados en la gota. En: Katzung B. *Farmacología Básica y Clínica*. 2ª ed. México: McGraw-Hill; 2013. p. 635-657.
45. Flóres J. Esteroides corticales y antiinflamatorios esteroideos. En: Flóres J, Armijo J, Villa A. *Farmacología humana*. 6ª ed. España: Masson; 2014. p. 1023-1038.

46. Opie E. On the relation of necrosis and inflammation to denaturation of proteins. *J Exp Med.* 1962; 115(3): 597-608.
47. Umaphathy E, Ndebia E, Meeme A, Adam B, Menziwa P, Nkeh-Chungag B, *et al.* An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plants Res.* 2010; 4(9): 789-795.
48. Williams L, O'Connar A, Latore L, Dennis O, Ringer S, Whittaker J, Conrad J, Vogler B, Rosner H, Kraus W, *et al.* The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med J.* 2008; 57(4): 327-331.
49. Salgado Majano v, Villatoro Bolainez L. Estudio de la calidad del agua subterránea por efecto de la actividad volcánica en los pozos del Municipio de Nueva Guadalupe, departamento de San Miguel. año 2014. [Tesis para optar al título de licenciado en ciencias químicas]. El Salvador: Universidad de El Salvador; 2014.
50. García E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones de macroalgas de baja California sur, México. [Tesis para optar el grado de maestría en ciencias en manejo de recursos marinos]. La Paz: Instituto Politécnico Nacional; 2016.
51. Prospecto Diclofenaco Sódico [en línea]. Norgreen. [citado 2018 May 15]. Disponible en:
http://www.norgreen.com/prospectos/prospecto_diclofenac.pdf
52. Capítulo 5: Instrumentos para la medida practica del color. [en línea]. Unirioja. [citado 2018 May 15]. Disponible en:
http://www.unirioja.es/cu/fede/color_de_vino/capitulo05.pdf
53. Remington A G. Remington: Farmacia [en línea]. Vol 1. Buenos Aires: Panamericana. 2003. [citado: 2018 Abr 18]. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=Av4llsyH-qcC&pg=PA873&lpg=PA873&dq=extracto+usp&source=bl&ots=Vp4uQ00>

mah&sig=mv3O2LbNKreckKBp3K0ocwIY6ve4&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj7xLm41-bXAhWBIJAKHU61D9oQ6AEIMTAC#v=onepage&q=extracto%20usp&f=falseVancouver

54. Actividad cariogénica y su relación con la incidencia de caries. Revista ADM. 1998; 55(2): 81-85.
55. Diccionario de la lengua española. 23^a ed. Madrid: Espasa, 2014.
56. Curinanbe W, Zelada I. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *cestrum auriculatum heritier* “hierba santa” en ratas con inducción a inflamación. [Tesis para optar al título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
57. Oviedo Y, Alquipa K. Estudio comparativo *in vitro* de la actividad antibacteriana de los extractos secos hidroalcohólicos al 70% de las de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico) frente a Bacterias que causan infecciones de las vías respiratorias y determinación de la toxicidad aguda en animales de experimentación. [Tesis para optar al título Profesional de Químico Farmacéutico]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011.
58. Joseph B, Priya R. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Guava (*P. guajava Linn*). Intg J Pharm Biol Sci. 2011; 2(1):53-69.
59. Metwally A, Omar A, Harraz F, Sohafy S. Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *P. guajava* L. leaves. Pharmacog Mag. 2010; 6(23):212-218.
60. Choudhury S, Sharan L, Sinha M. Phytochemical and antimicrobial screening of *P. guajava* L. Leaf extracts against clinically important gastrointestinal pathogens. J Nat Prod Plant Resc. 2012; 2(4):524-529.
61. Chandra S, Chatterjee P, Dey P, Bhattacharya S. Evaluation of *in vitro* antiinflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. As Pacf J Trop Biomed. 2012; 2(1):178-180.
62. Grant N, Album H, Kryzanauskas C. Stabilization of serum albumin by antiinflammatory drugs. Biochemical Pharmacology. 1970; 19(3): 715-722.

63. Mizushima Y, Kobayashi M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins. *J Pharm Pharmacol*, 1968; 20(1): 169-173.
64. Vane JR. Inhibition of prostaglandins synthesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature*. 1971; 231(2): 232-235.
65. Jagtap V, Agasimundigm Y, Jayachandran E, Sathe B. In vitro anti-inflammatory activity of 2-amino-3-(substituted benzylidene-carbohydrazide)-4,5,6,7 tetrahydrobenzothiophenes. *J Pharm Res*, 2011; 4:378-79.
66. Weni L, Harliansyah, Widayanti. Anti-Inflammatory Activity of The Extract of Guava Leaves (*Psidium guajava* L) in The Rat (*Rattus norvegicus* L). *Ind J Can Chemopr*, 2011; 2(1): 169-172.

ANEXOS

ANEXO N° 1: Matriz de consistencia

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO SECO DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* L. “guayaba”, *in vitro*

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES y DIMENSIONES	METODOLOGÍA
<p>Problema Principal:</p> <p>¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba”, <i>in vitro</i>?</p> <p>Problema Secundario:</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 31,25µg/ml, <i>in vitro</i>?</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 62,5µg/ml, <i>in vitro</i>?</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 125µg/ml, <i>in vitro</i>?</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 250µg/ml, <i>in vitro</i>?</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 500µg/ml, <i>in vitro</i>?</p> <p>➤ ¿Presentará actividad antiinflamatoria el extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 1000µg/ml, <i>in vitro</i>?</p>	<p>Objetivo General:</p> <p>Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba”, <i>in vitro</i>.</p> <p>Objetivo Específicos:</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 31,25µg/ml, <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 62,5µg/ml, <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 125µg/ml, <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 250µg/ml, <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 500µg/ml, <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 1000µg/ml, <i>in vitro</i>.</p>	<p>Hipótesis General:</p> <p>El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” presenta actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>Hipótesis Secundarias:</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 31,25µg/ml presenta actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 62,5µg/ml presenta actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 125µg/ml presentan actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 250µg/ml presentan actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 500µg/ml presentan actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p> <p>➤ El extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” al 1000µg/ml presentan actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>.</p>	<p>Independiente</p> <p>Concentraciones del extracto seco de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba”.</p> <p>Dependiente</p> <p>Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> del extracto seco de hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba”.</p>	<p>Tipo de Investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> •Experimental •Transversal •Prospectivo •Aplicada <p>Nivel de Investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> •Explicativo <p>Método</p> <p>Desnaturalización de proteínas</p> <p>Población</p> <p>Plantas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” que crece en la localidad de Andahuasi.</p> <p>Muestra</p> <p>1kg de hojas de <i>Psidium guajava</i> L. “guayaba” de una edad aproximadamente de 7 años.</p>

ANEXO N° 2:

Constancia de clasificación taxonómica de *Psidium guajava* L. "guayaba"

  **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° 277-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 (planta completa) recibida de **Lucina Violeta SAROMO MELENDEZ**, estudiante de Farmacia y Bioquímica de la Universidad ALAS PERUANAS, ha sido estudiada y clasificada como *Psidium guajava* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: MYRTALES

FAMILIA: MYRTACEAE

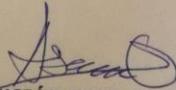
GENERO: *Psidium*

ESPECIE: *Psidium guajava* L.

Nombre vulgar: "guayaba"
Determinado por Blgo. Mario Benavente Palacios

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

Lima, 21 de noviembre de 2017


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



ACE/ddb

ANEXO N° 03:

Instrumento de recolección de datos

Cuadro: Medidas de absorbancia

Concentraciones de las muestras de estudio, <i>Psidium guajava</i> L. "guayaba"	Abs (nm)	\bar{X}	Concentraciones del fármaco de referencia, diclofenaco sódico	Abs (nm)	\bar{X}
31,25 µg/ml			31,25 µg/ml		
62.5 µg/ml			62.5 µg/ml		
125 µg/ml			125 µg/ml		
250 µg/ml			250 µg/ml		
500 µg/ml			500 µg/ml		
1000 µg/ml			1000 µg/ml		
Control			Abs		
Alcohol de 70°					

ANEXO N°04:

Autorización Institucional para el uso de los laboratorios y el desarrollo de las técnicas de investigación

UAP UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
FILIAL HUACHO

125 - 0033699

SOLICITO: USO DEL LABORATORIO

SEÑOR: Lic. Maria Eugenia Loza Tumba

APELLIDO PATERNO: Sacoma APELLIDO MATERNO: Melendez NOMBRES: Lucina Violeta

Documento de Identidad: 46513099 Carrera Profesional: FARMACIA Y BIOQUIMICA (DNI, L.M Boleta)

Código: 2013115233 Ciclo: Turno:

Teléfono: 981331127 E-mail:

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo:

Uso de laboratorio y material en general con supervisión del asesor o profesor más posible del laboratorio el día 13 de agosto 2018

Agradeciendo anticipadamente su atención, quedo de Usted.

Atentamente,

Mg. Maria Eugenia Loza Tumba
COORDINADORA DE LA ESCUELA DE OBSTETRICIA

Huacho, 10 de agosto del 2018

Adjunto:

- 1.-
- 2.-
- 3.-
- 4.-

HUACHO: Av. Jorge Chávez N° S/N Barrio Chururo Hualmay - Huaura - Lima Telf.:(01)239 5606 / (01)239 5617
LIMA: Av. San Felipe N° 1109 - Jesús María, Lima - Perú. Teléfono: 266-0195, 470-0953 Fax: 470-9838
Website: http://www.uap.edu.pe E-mail: webmaster@uap.edu.pe



Figura 3. Fruto de *Psidium guajava* L.

ANEXO N° 05: Galería fotográfica



Figura 4. Recolección de *Psidium guajava* L. “guayaba”

Figura 5. Selección de hojas



Psidium guajava L. “guayaba”



Figura 6. Desechado de las hojas de *Psidium guajava* L. “guayaba”



Figura 7. Trituración de hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 8. Polvo fino de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba"

Figura 9, 10, 11 y 12. Procedimiento de maceración



Figura 9. Pesado del polvo fino de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 10. Introducción del polvo fino de las hojas de *Psidium guajava* L. "guayaba" al frasco ámbar



Figura 11. Adición del disolvente (alcohol de 70°)



Figura 12. Sistema de extracción por maceración



Figura 13. Proceso de filtración del extracto



Figura 14. Concentración del extracto mediante la evaporación del solvente en la estufa

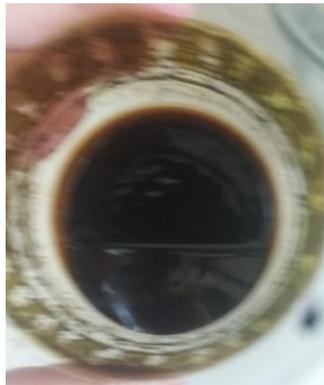


Figura 15. Extracto seco de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 16. Envasado del extracto seco de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 17. Solventes utilizados en la prueba de solubilidad



Figura 18. Resultado del análisis cualitativo de la prueba de solubilidad del extracto seco de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 19. Reactivos utilizados en la marcha fitoquímica



Figura 20. Resultado del análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 21. Preparación de la Solución Salina Tamponada con Fosfato (PBS)



Figura 22. Medición del pH de la Solución Salina Tamponada con Fosfato (PBS)



Figura 23. Obtención de la albúmina de huevo de gallina



Figura 24. Preparación de las concentraciones del extracto seco hidroalcohólico de *Psidium guajava* L. "guayaba"

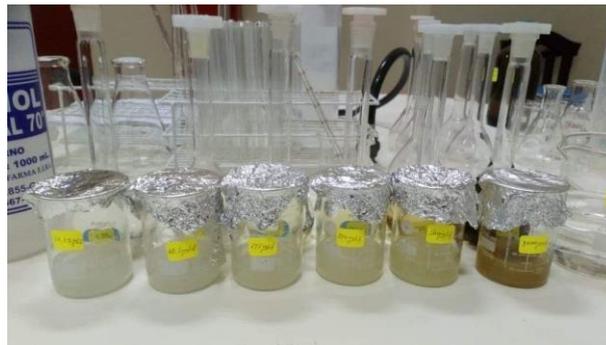


Figura 25. Preparación de las mezclas de reacción del extracto seco hidroalcohólico de *Psidium guajava* L. "guayaba"



Figura 26. Desnaturalización de las proteínas inducida por calor en la estufa



Figura 27. Medida de absorbancia de las muestras en el espectrofotómetro UV Vis



Figura 28. Materiales de vidrio



Figura 29. Equipo e instrumentos (balanza analítica, incubadora, potenciómetro y estufa)