



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD**

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

TESIS:

“EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO
LIOFILIZADO DE *Bixa orellana* (ACHIOTE) SOBRE SU ACTIVIDAD
ANTIINFLAMATORIA”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR:
CHAVELON OROYA, ELIZABETH RAQUEL.

ASESOR:
Q.F. MONTEAGUDO MONTENEGRO, FABRICIO.

LIMA, PERÚ SETIEMBRE 2018

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía en todo momento dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y seguir adelante con cada meta trazada.

A mis padres, esposo, hermanos y abuelos por estar siempre a mi lado brindándome sus enseñanzas, su apoyo incondicional y su tiempo para lograr mis metas.

AGRADECIMIENTO

Al Asesor de tesis, Q.F Fabricio Monteagudo Montenegro por su apoyo y orientación.

Al Dr. Javier Ramírez por aceptarme para realizar el ensayo experimental bajo su dirección, y contar con su apoyo y sugerencias.

A mis amigos colegas, gracias por el tiempo brindado y ayuda; me han demostrado el significado de la amistad.

<i>Dedicatoria</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimiento</i>	<i>iii</i>
<i>Índice</i>	<i>iv</i>
<i>Índice de cuadros</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>viii</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>ix</i>
<i>Índice de gráficos</i>	<i>x</i>
<i>Resumen</i>	<i>xi</i>
<i>Abstract</i>	<i>xii</i>
<i>Introducción</i>	<i>xiii</i>

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	14
1.2. Problemas de Investigación.....	15
1.2.1. Problema General.....	15
1.2.2. Problemas Específicos.....	15
1.3. Objetivos de la Investigación.....	16
1.3.1. Objetivo General.....	16
1.3.2. Objetivos Específicos.....	16
1.4. Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	16

CAPITULO II: HIPOTESIS Y VARIABLE DE LA INVESTIGACION

2.1. Hipótesis de la investigación.....	18
2.1.1. Hipótesis General.....	18
2.1.2. Hipótesis Específicos.....	18
2.2. Variables de la Investigación.....	19
2.2.1. Identificación y clasificación de variables.....	19
2.2.2. Operacionalización de variables.....	19

CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes de la investigación.....	20
3.1.1. A nivel nacional.....	20
3.1.2. A nivel internacional.....	23
3.2. Bases Teóricas.....	25
3.2.1. <i>Bixa Orellana</i> (achiote).....	25
3.2.1.1. Clasificación Taxonómica.....	25
3.2.1.2. Descripción Botánica.....	26
3.2.1.3. Composición Química.....	27
3.2.1.4. Propiedades farmacológicas.....	31
3.2.2. Fisiología de la Inflamación.....	32
3.2.2.1. Mediadores de Inflamación.....	33
3.2.2.2. Tipos de Inflamación.....	48
3.2.3. Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs).....	50
3.3. Definición de Términos Básicos.....	59

CAPITULO IV: METODOLOGIA DE LA INVETIGACION

4.1. Tipo y nivel de Investigación.....	62
4.1.1. Tipo de Investigación.....	62
4.1.2. Nivel de Investigación.....	62
4.2. Método y diseño de Investigación.....	63
4.2.1. Método de Investigación.....	63
4.3. Población y Muestreo de la Investigación.....	63
4.3.1. Población.....	63
4.3.2. Muestra.....	63
4.4. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	63
4.4.1. Técnicas.....	63
4.4.2. Instrumentos.....	64
4.5. Procedimiento de recolección de Datos.....	64

**CAPITULO V: PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE
RESULTADOS**

5.1. Análisis de tablas y gráficos.....	71
5.2. Discusión.....	74
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS.....	84

Cuadro N°1: Clasificación taxonómica de <i>Bixa orellana</i> L.....	25
Cuadro N°2: Metabolitos presentes en las hojas desecadas y del extracto acuoso liofilizado de <i>Bixa orellana</i> L	28
Cuadro N°3: Papel de los mediadores en las diferentes reacciones de la inflamación	34
Cuadro N°4: Propiedades de las tres isosformas de la sintetasa de óxido nitroso (NO).....	47
Cuadro N°5: Volúmenes administrados a cada grupo de trabajo para la evaluación del efecto antiinflamatorio Propiedades de.....	70
Cuadro N°6: Tamizaje Fitoquímico.....	71

INDICE DE TABLAS

pág.

Tabla N°1: Solubilidad del extracto acuoso liofilizado de <i>Bixa orellana L.</i>	29
Tabla N°2: Características de los receptores histamínicos.....	37
Tabla N°3: Clasificación de los antiinflamatorios no Esteroides (AINE).....	52
Tabla N°4: Inflamación por hora.....	72
Tabla N°5: Evolución del porcentaje inhibición del proceso inflamatorio por hora	73

Figura N°1: Ácido cis-poliemo monometilester dicarboxilico.....	31
Figura N°2: Estructura de la norbixina.....	31
Figura N°3: Diagrama de los mediadores inflamatorios derivados de los fosfolipidos.....	43
Figura N°4: Principales manifestaciones locales de la inflamación aguda en comparación con la normalidad.....	59

Grafico N°1: Evolución de la inflamación promedio por hora	73
Grafico N°2: Evolución del porcentaje inhibición del proceso inflamatorio por hora.....	74

RESUMEN

Introducción: Diversos estudios han demostrado la suma importancia del uso de recursos naturales como una alternativa terapéutica para mejorar el problema de salud que se viene dando en los últimos años, contribuyendo a la investigación y aporte a la ciencia por lo cual se realiza el presente trabajo. **Objetivo:** Determinar el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal. **Métodos:** Se recolectó las hojas de *Bixa orellana* (achiote) del distrito de Iquitos, fue seleccionado, lavado, secado, pulverizado y macerado con agua para luego ser liofilizado. Se trabajó con 5 grupos de 6 ratones *Mus musculus* de la cepa Balb/c de 1 mes $\frac{1}{2}$ de edad, mayor a 25g de peso a quienes se les aplicó los extractos acuosos liofilizado de *Bixa orellana* 4%, 6% y 8%; se utilizó como control negativo (suero fisiológico) y el control positivo diclofenaco 0,25% todos administrados por sonda orogástrica. Para determinar el efecto antiinflamatorio se usó la técnica del edema pedal induciéndole por inyección carragenina 1% en la superficie de la aponeurosis de la pata derecha del ratón. La medición del volumen fue a 1,2,3,4,5 y 24 horas usando un plestismómetro digital. **Resultados:** Indica que el extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) al 4% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1 y 2 horas dando un 52 y 64% superando al diclofenaco (32 y 56%), asimismo el extracto al 6% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1 hora dando un 75% superando al diclofenaco (32%), también se pudo observar que el extracto al 8% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1, 2 y 3 horas dando un 45, 78 y 64% superando al diclofenaco (32, 56 y 62 %). **Conclusión:** Los extractos acuosos liofilizados de hojas de *Bixa orellana* (achiote) al 4%, 6% y al 8% tienen actividad antiinflamatoria.

Palabras clave: Actividad antiinflamatoria, *Bixa orellana*, extracto acuoso liofilizado.

ABSTRACT

Introduction: Several studies have shown the great importance of the use of natural resources as a therapeutic alternative to improve the health problem that has been occurring in recent years, contributing to the research and contribution to science for which the present work is carried out. **Objective:** To determine the effect of the concentration of the lyophilized aqueous extract of leaves of *Bixa orellana* (achiote) on its anti-inflammatory activity through the pedal edema model.

Methods: The leaves of *Bixa orellana* (achiote) from the district of Iquitos were collected, selected, washed, dried, pulverized and macerated with water and then lyophilized. We worked with 5 groups of 6 *Mus musculus* mice of the strain Balb / c of 1 month $\frac{1}{2}$ of age, greater than 25g of weight, to which were applied the aqueous extracts lyophilized of *Bixa orellana* 4%, 6% and 8%; it was used as a negative control (physiological serum) and the positive control diclofenac 0.25% all administered by orogastric tube. To determine the anti-inflammatory effect, the pedal edema technique was used, inducing carrageenan injection 1% on the surface of the aponeurosis of the right leg of the mouse. The volume measurement was at 1,2,3,4,5 and 24 hours using a digital plethysmometer.

Results: It indicates that the lyophilized aqueous extract of leaves of *Bixa orellana* (achiote) at 4% shows an inhibition of inflammation after 1 and 2 hours, giving 52 and 64% surpassing diclofenac (32 and 56%), as well as extract 6% present an inhibition of inflammation after 1 hour giving 75% overcoming diclofenac (32%), it was also observed that the extract at 8% shows an inhibition of inflammation after 1, 2 and 3 hours giving 45, 78 and 64%. surpassing diclofenac (32, 56 and 62%).

Conclusion: The lyophilized aqueous extracts of *Bixa orellana* (achiote) leaves at 4%, 6% and 8% have anti-inflammatory activity.

Key words: Anti-inflammatory activity, *Bixa orellana*, lyophilized aqueous extract.

INTRODUCCION

El Perú es uno de los países más ricos en recursos naturales, posee una flora muy diversa, la misma que ha sido aprovechada desde las primeras poblaciones de nuestro país como una alternativa para contrarrestar sus enfermedades gracias a sus propiedades curativas. En la actualidad se han realizado diversas investigaciones que han permitido evidenciar las propiedades de dichos recursos vegetales dando lugar a un mayor estudio e importancia a la hoy conocida como medicina tradicional.

Bixa Orellana (achiote) es una de una planta originaria de América, encontrada en el Perú en los departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín, muy utilizada en la medicina tradicional, ya que se ha demostrado en diferentes investigaciones que cuenta con diversas propiedades farmacológicas como: antiinflamatorio, antiulcerosos, antioxidantes, antibacterianos, antiparasitaria, antifúngico, antivenérea e incluso con un efecto analgésico, cicatrizante, hipoglucemiante, hepatoprotector y diurético.

Así mismo, cabe mencionar que el presente trabajo se encuentra enfocado en las propiedades antiinflamatorios, ya que en el país se ha evidenciado que patologías relacionadas a procesos inflamatorios como la artritis, cada vez son más frecuentes, afectando principalmente al adulto mayor por causas propias de su edad.

Es por ello que el objetivo del presente investigación fue determinar el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* (achiote) sobre su propiedad ya que hasta la fecha los estudios realizados no evidencian la concentración adecuada para tratar ciertos procesos inflamatorios acompañados de dolor, por lo que sugiero el uso de este recurso natural como una alternativa terapéutica en la mejora de la salud de las personas.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

El instituto Nacional de Estadística del Perú, en el año 2015, indicaron que el número de adultos mayores asciende al 9,7 % de la población total¹, siendo considerados como los principales pacientes con dolencias asociados a procesos antiinflamatorios acompañados de dolor, en la mayoría de los casos de carácter articular debido al desgaste propio de su edad.

Se ha evidenciado que los protocolos de atención primaria de salud establecen la administración de medicamentos denominados Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs) de muy buena eficacia pero que producen alta incidencia de efectos adversos². Es por ello, que se tiene la necesidad de disponer de soluciones menos perjudiciales dando lugar a que los recursos naturales sean una opción más recurrente, entre estos el uso de la especie vegetal

Bixa orellana conocida popularmente como Achiote, la misma que fue estudiada en el 2013 por investigadores malayos enfocándose en el efecto antihistamínico de sus componentes químicos encontrando eficacia antiinflamatoria y efectos inhibitorios en la permeabilidad vascular.³

Pese a ello hasta la actualidad no se ha evidenciado el estudio de la concentración ideal para su uso de forma oral, por lo que surge el interés de determinar dicha información realizando el presente trabajo de investigación.

1.2 Problemas de la investigación

1.2.1 Problema General

¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?

1.2.2 Problemas Específicos

- **P.E.1:** ¿Cuál el efecto de la concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?
- **P.E.2:** ¿Cuál el efecto de la concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?
- **P.E.3:** ¿Cuál el efecto de la concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.
- Evaluar el efecto de la concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.
- Evaluar el efecto de la concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.

1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la Investigación

1.4.1 Justificación de la investigación

En la actualidad el uso de medicamentos sintéticos genera un problema para la sociedad, debido a los continuos casos de automedicación, sobre todo por el consumo de los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs) que generan reacciones adversas a nivel gástrico y renal. Es por ello que la medicina tradicional resulta ser una alternativa para el tratamiento y prevención de algunas enfermedades; no obstante, en muchos casos se conoce las

propiedades que cuentan los recursos naturales, más no las concentraciones correctas para su uso.

La concentración adecuada podrá ser un gran aporte en beneficio para la sociedad, siendo una alternativa terapéutica en el campo farmacéutico, con la ventaja de que al ser un producto natural el posible daño colateral que podría causar a nuestro organismo, sería mínimo o nulo. Asimismo, difundir sus múltiples usos, ya que se busca contribuir al valor que se le viene dando a este recurso natural para el tratamiento de ciertas patologías y mejorar el problema de salud.

1.4.2 Importancia de la investigación

Posee una gran importancia, ya que la información obtenida podrá servir para el estudio de futuras investigaciones de otros recursos presentes en nuestra flora peruana, facilitando que en un futuro se elaboren formas farmacéuticas como los ungüentos, geles, cremas a base del extracto vegetal que tengan un gran acceso y menor costo para la población.

1.4.3 Limitaciones de la investigación

Escasa información referente a las propiedades que presenta *Bixa orellana* (achiote).

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS Y VARIABLE DE LA INVESTIGACION

2.1 Hipótesis de la Investigación

2.1.1 Hipótesis General

El extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) a diversas concentraciones modifica su actividad antiinflamatoria.

2.1.2 Hipótesis Específicas

- La concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.

- La concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.

- La concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.

2.2 Variables de la Investigación

2.1.1 Identificación y clasificación de variables

IDENTIFICACION DE VARIABLES	CLASIFICACION DE VARIABLES
Concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (achiote)	Variable independiente
Actividad antiinflamatoria	Variables dependiente

2.1.2 Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (achiote)	Producto de la extracción de hojas, obtenidos por cocción con agua y conservada por liofilización.	Concentración del extracto (mg/ml)	4%	%
			6%	
			8%	
Actividad antiinflamatoria	Acción de reducir la inflamación tras administrar extractos acuosos liofilizados.	Edema plantar	Volumen del edema plantar	ml

CAPÍTULO III MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedentes de la Investigación

3.1.1 A nivel Nacional

Pinedo P, Arroyo A, Herrera C, Cisneros H. “EFECTO ANTIINFLAMATORIO Y ANTIOXIDANTE DEL ACEITE DE *Linum usitatissimum* L. "linaza” (2016) Investigación realizada por la universidad San Pedro. Tuvo como objetivo evaluar la actividad antiinflamatoria y antioxidante del aceite de *Linum usitatissimum* L. (linaza). Para la realización de la misma se utilizó la fracción del aceite de linaza marca Gatti. La actividad antiinflamatoria fue evaluada *in vivo* usando el método del edema plantar inducido por carragenina al 1% en la aponeurosis subplantar de la pata derecha de los ratas albinas divididas en 5 grupos de 3 ratas *Holtzmann*, machos de 265 ± 20 g. de peso; el grupo control (suero fisiológico), control positivo ibuprofeno (120 mg/kg) y el aceite de Linaza de 0.5, 1 y 1.5 ml/kg todos administrados por vía oral y el efecto antioxidante fue evaluado *in vitro* con el método del DPPH, preparando diluciones en butanol

a concentraciones de 100, 500 y 1000 µg/mL. Dando como resultado la disminución de la inflamación en un 8,10% y 13.41% en dosis de 1 y 1.5 ml/Kg y el efecto antioxidante en un 10.5% de inhibición de radicales DPPH. Concluyendo que el aceite de *Linum usitatissimum L.* (linaza) posee efecto antiinflamatorio, pero no se evidencia efecto antioxidante in vitro.⁴

Silva H, Ríos F. “*Bixa orellana L.* UN ANTIINFLAMATORIO MILENARIO” (1996) Investigación realizada por en el Instituto Peruano de Seguridad Social (Iquitos, Perú). Tuvo como objetivo demostrar la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Bixa orellana L.* (achiote), en modelos ratones albinos *Mus musculus* cepa Balb/c. Para la realización de la misma se utilizó la prueba de inhibición de la inflamación a diferentes concentraciones, empleando 50 modelos experimentales de ratones albinos *Mus musculus* hembras de 35 días de nacido y peso promedio de 22.5g a los cuales se le inoculo 10ul de formol en la almohadilla plantar de la pata posterior derecha. Dando como resultado la inhibición de la inflamación en 55,47% en dosis de 0,651 gr/kg y conforme descendía las concentraciones administradas, disminuía el efecto. Concluyendo que el extracto liofilizado de *Bixa orellana L.* (achiote) tiene efecto antiinflamatorio.⁵

Cienfuegos E, Cueva L. “EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS LIOFILIZADOS DE LAS HOJAS DE TRES ECOTIPOS DE *Bixa orellana L.* (ACHIOTE), EN RATAS ALBINAS *Rattus norvegicus*”, (2009). Tesis para optar el título de Químico

Farmacéutico. Tuvo como objetivo determinar el efecto antiinflamatorio de los extractos acuosos liofilizados de las hojas de tres ecotipos de *Bixa orellana* L. "achiote" codificadas como E1, E2 y E3 a dosis de 100 y 200 mg/kg. Se usó el método "Granuloma inducido por pellets de algodón", la vía utilizada fue la vía oral y como medicamento de referencia la Indometacina (2.5 mg/kg). Dando como resultado un porcentaje de inhibición de la inflamación (E1-100 = 32.53%, E1_200 = 14.37%; E2-100 = 14.06%, E2-200 = 6.25%; E3-100 = 21.68%, E3-200 = 10.04%). Concluyendo que el ecotipo E1 a dosis de 100 mg/kg fue el que presento mayor efecto antiinflamatorio que el ecotipo E2 y E3 a la misma dosis.⁶

Guerrero V, Paredes S. "TAMIZAJE FITOQUIMICO DE HOJAS Y SEMILLAS DE *Bixa orellana*" (2008). Investigación realizada por la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tuvo como objetivo encontrar qué tipo de metabolitos secundarios contiene la especie *Bixa Orellana*, utilizando la metodología descrita por (Miranda, 2003). Dando como resultado que las hojas presentan pocos alcaloides, cantidad moderada de flavonoides abundantes leucoantocianidinas, y una cantidad moderada de taninos; no se encontró cardiotónicos, saponinas y quinonas, presento una reacción dudosa para esteroides y/o triterpenos. En las semillas se encontraron escasos flavonoides, moderada cantidad de leucoantocianidinas y escasos taninos, presento una reacción dudosa frente a la prueba de alcaloides y de esteroides y/o triterpenos no se encontró saponinas, quinonas y cardiotónicos. Concluyendo presencia de alcaloides en hojas, cantidad

moderada de flavonoides en hojas y semilla, presenta abundante de leucoantocianidinas en hojas y moderado en semillas, saponinas negativo, quinonas negativo y cardiotónicos negativo en hojas y semillas.⁷

3.1.2 A nivel Internacional

Yong K, Zakaria A, Kadir A, Somchit N, Ee G, Ahmad Z. COMPONENTES QUÍMICOS Y ACTIVIDAD ANTIHISTAMÍNICA DEL EXTRACTO DE HOJA DE *Bixa orellana* (2013). Investigación realizada por el instituto nacional de salud de EE.UU. Tuvo como objetivo la determinación de los principales constituyentes químicos del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* (AEBO) y evaluar la actividad antihistamínica del AEBO durante la inflamación aguda inducida en ratas. A los animales se les administraron dosis de 50 y 150mg/kg del extracto acuoso liofilizado de hojas de achiote y se midió el edema de la pata inducido por histamina en ratas. Para evaluar la inflamación aguda se produjo una inyección subplantar de 0,1 ml de histamina al 0,1% en la pata trasera derecha de cada rata en los grupos de control y tratamiento. Se dividieron en grupos de 6 ratas Sprague- Dawley machos pesando 200 - 250g; considerando un control recibieron un volumen similar de 0,1ml, se utilizó loratadina como fármaco de referencia. Los resultados mostraron una inhibición del edema de pata a partir de los 60 minutos con porcentaje 60,25% con la dosis 150mg/kg. En conclusión se demostró que la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso liofilizado de Bixa Orellana “achiote” se debió a su efecto inhibitorio sobre la permeabilidad vascular logrando

demostrar el uso tradicional que le daban al achiote como tratamiento de trastornos inflamatorios.³

Cáceres A, Saravia A, Jáuregui E, Aguirre I. “ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE PLANTAS MEDICINALES DE USO POPULAR EN GUATEMALA (I)” (1994). Investigación realizada por la Universidad de San Carlos de Guatemala. Tuvo como objetivo revisar la literatura de las 12 plantas más utilizadas en Guatemala, para el tratamiento de procesos inflamatorios, una de ellas fue *Bixa orellana* (achiote). Para la realización de la misma se recolecto y seco a luz solar para luego obtener un extracto acuoso de hojas y determinar la dosis que fue 750 mg/Kg y 1000 mg/kg, se usó la metodología edema artificial mediante el uso de caolín 1% en la pata de la rata y como medicamento de referencia se utilizó la fenilbutazona. Dando como resultado a dosis de 750 mg/Kg y 1000 mg/Kg a 1, 3 y 5 horas no hay disminución de la inflamación. Concluyendo que el extracto acuoso de hojas de achiote no presenta actividad antiinflamatoria.³⁴

3.2 Bases Teóricas

3.2.1. *Bixa Orellana* (achiote)

La palabra achiote se deriva del Nahuatl "achiotl", y el de bixa del Taíno "bixa" que los pobladores pronunciaban "bisha". El nombre de la especie se otorgó en honor al descubridor del Amazonas, Francisco de Orellana.⁸

Es una planta oriunda del Brasil, crece hasta los 1800 msnm en zonas tropicales, desde la región Amazónica de Brasil hasta Centro América. Los cultivos se han extendido a muchos países tropicales de África y Asia siendo una planta muy conocida a nivel mundial.⁹

En el Perú crece en clima tropicales, se encuentran distribuidos en los departamentos de Huánuco (Tingo María), Pasco, Junín, Tumbes, Piura, Lambayeque, Madre de Dios, Iquitos, Ucayali, Loreto, Amazonas, San Martín, Cuzco, Puno, Apurímac.⁹

3.2.1.1. Clasificación Taxonómica

Según ubicación sistemática:

Cuadro N°1

Clasificación taxonómica de *Bixa Orellana* L.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Dilleniidae
Orden:	Violales
Familia:	Bixaceae
Genero:	<i>Bixa</i>
Especie:	<i>Bixa Orellana</i> L.
Nombre Común:	Achiote

Fuente: Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).¹⁰

3.2.1.2. Descripción botánica

- Morfología del árbol y hojas

El árbol mide entre 2 a 5m de altura dependiendo de las condiciones ecológicas en que se encuentre creciendo, con copa redonda, piramidal y ramificación policotómica. Las hojas son simples, alternas, acorazonadas, caducifolias, truncadas y ampliamente cordada en la base, ápice acuminado, base truncada algo acorazonado en el envés, de 10 – 35 cm de largo incluido el peciolo y 7 – 17 cm de ancho, peciolo 3 – 12 cm de largo de 1 – 2 mm de diámetro, 5 nervaduras principales que nacen de la base, son de color verde oscuro y lisas en ambos lados, Inflorescencia en panículas terminales.^{11, 12}

- Morfología de la raíz y flor

Tiene la raíz pivotante y posee numerosas raíces secundarias y terciarias. Cuando es adulta, la planta posee un sistema radical bien desarrollado. La flor es hermafrodita, actinomorfa; cáliz con 5 sépalos imbricados caducos de 2.5 – 3 cm de largo, el color varía de blanco hasta rosado o violeta, corola con 5 pétalos de forma ovalada, el pistilo tiene forma de boca abierta, androceo con abundante estambres, antera con 8 sacos embrionarios; gineceo con estilo alargado y rígido, ovario tiene aspecto elipsoidal envuelto por pelos glandulares, presenta de 2 – 3 celdas. Todas las yemas vegetativas se convierten en yemas florales durante la época reproductiva ^{11, 12}

- Morfología del tallo y ramas

Presenta un tallo con ramificación dicotómica desde la base, de 20 – 30 cm a más de diámetro, leñoso, alcanza 10m de altura; leño liviano y poderoso de color blanquecino. Corteza

externa levemente lisa o poco fisurada con presencia de ritidomas, cubierto de líquenes, musgos, color blanco grisáceo y al raspado se observa un color marrón rojizo con manchas amarillentas. Corteza interna es de color rosado opaco, desprende un pigmento amarillo al contacto y ramas delgadas, leñosas y alargadas. Su coloración podría variar de verde a morado.^{11, 12}

- Morfología del fruto y semilla

Tiene una cápsula dehiscente de formas y tamaños muy variables, recubierto por espinas rígidas o flexibles de 0.4 – 1.5 cm de largo las que ocasionalmente están ausentes, presenta 2 valvas con paredes delgadas recubiertas por un arilo de color rojo ocre a rojo sangre o anaranjado, de forma poliédrica generalmente piramidal, el número varía de 10 – 98 por fruto encontrándose 45 semillas en promedio. En el interior de la valva posee una placenta que contiene una membrana blanca adherida a la pared. Las semillas pueden ser de forma cónica o triangular, pequeñas, livianas de 3 a 4 mm de base y 3 a 4mm de altura, las cuales están recubiertas por una membrana fina y blanquecina, debajo de la cual se encuentran los pigmentos colorantes. Conforme madura el fruto aparecen en la superficie de las semillas en papilas rojas que llegan a cubrirlas por completo. El pigmento que se encuentra en las semillas constituye alrededor del 4-5% del peso total de las mismas.^{11- 13}

3.2.1.3 Composición Química

Los estudios fitoquímicos ya realizados han evidenciado la presencia de varios derivados del carotenoides incluyendo el bixina y norbixina, algunos terpenoides, tocotrienoles, y

flavonoides (luteolina incluyendo y apigenina) en Orellana de Bixa semillas. Otros estudios han demostrado que las hojas Orellana de Bixa presentan flavonoides bisulfatos y de abarcar del aceite esencial principalmente sesquiterpenes con el ishwarane como el compuesto principal.⁷

Cuadro N°2

Metabolitos presentes en las hojas desecadas y del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana L*

PRUEBA	Extracto liofilizado	METABOLITOS
Dragendorff	0	Alcaloides
Liebermann-Buchard	-	Triterpenos-esteroides
Bomtrager	-	Quinonas
Baljet	-	Cumarinas
Carr-Price	-	Carotenos
Reactivo de Sudan	-	Aceites esenciales y grasas
Reactivo de Fehling	++	Azúcares reductores
Espuma	+	Saponinas
Cloruro Ferrico	+++	Fenoles y taninos
Ninhidrina	-	Aminas y aminoácidos
Reactivo Kedde	-	Glicósidos cardiotónicos
Reactivo Shinoda	+++	Flavonoides
Tacto	0	Mucilagos
Sabor	+	Principios amargos y astrigetes
Molisch	++	Glicósidos
Picrato de Sodio	-	Glicósidos Cianogénicos

(* (+++ Abundante; (++) moderado; (+) leve; (0) ausente; (-) no se realizó.¹²

Fuente: Instituto de medicina tradicional de Essalud.

TABLA N°1Solubilidad del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana L*

Solventes^a	Resultados^b
Agua destilada	++++
Metanol	+ -
Etanol	+ -
Isobutanol	-
Acetato de etilo	-
Diclorometan	-
Tolueno	-
n-hexano	-

^a0.5mL de solvente que disuelven 5mg de muestra problema

^b(-) insoluble, (+-) escasamente soluble, (+) poco soluble; (++) medianamente soluble, (+++) soluble, (++++) muy soluble. ¹²

Fuente: Instituto de medicina tradicional de Essalud.

Posee dos principios colorantes, uno de los cuales es la "bixina" (rojo-anaranjado) es una sustancia algo cristalina de color rojo oscuro. El otro, que también es un elemento colorante, es la "nor-bixina" (orellina) amarillo es soluble en alcohol, más lo es en alcohol hirviendo, éter y cloroformo, aceites y grasas; es poco soluble en agua. La nor-bixina, en cambio es insoluble en éter, pero soluble en agua y alcohol. ⁷

El principal constituyente colorante de la semilla del achiote es la bixina, que se encuentra en la cubierta exterior de la semilla del fruto, representa más del 80% de los

pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción los componentes principales de la semilla del achiote son:

- Resina
- Orellina (materia colorante amarilla)
- Bixina (materia colorante roja) (80%)
- Aceite volátil y aceite graso.

El principal componente colorante de la semilla es la bixina, de color rojo oscuro. Químicamente es un ácido caretonoico de fórmula empírica $C_{25}H_{30}O_4$, que se presenta como isómero geométrico del tipo *cis*, pero que puede convertirse a su forma *trans*, más estable (Figura N°1). Tiende a degradarse muy rápido en presencia de luz y temperaturas mayores de 70°C. Es insoluble en y en cloroformo, aceites vegetales, acetato de etilo y propilenglicol.¹¹

El pigmento de la semilla de achiote, que se encuentra en la parte más externa, tiene diferentes compuestos como proteínas, pectina, carbohidratos, ceniza, taninos, pentosanos, carotenoides y β - Carotenos.

Al hervir la bixina en una solución de álcali, se forma una molécula de metanol y una sal dipotásica que por acidificación, produce el ácido dibásico norbixina, $C_{24}H_{26}O_4$ (Figura N°2), pigmento carotenoide soluble en agua.⁷

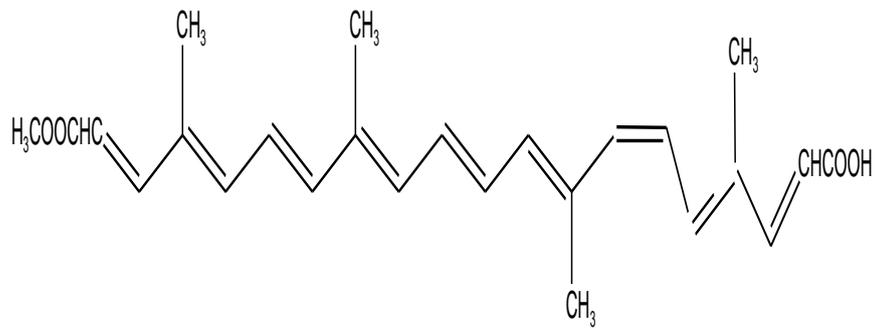


Figura N°1. Ácido cis-polieno monometilester dicarboxílico

Fuente: Tamizaje fitoquímico de hojas y semillas de (***Bixa orellana***)

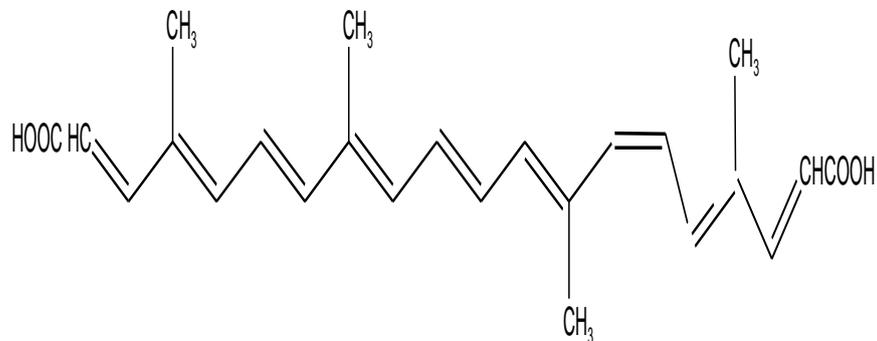


Figura N°2. Estructura de la norbixina.

Fuente: Tamizaje fitoquímico de hojas y semillas de (***Bixa orellana***)

3.2.1.4. Propiedades farmacológicas

Según los usos tradicionales, las hojas se emplean en casos de gonorrea, afecciones de la garganta y como antiemético. Las semillas se usan como tónico gastrointestinal, antidiarreico, purgante, estomáquico, antiprurítico, antiinflamatorio, antidiabético, febrífugo y en caso de tumores bucales y estados gripales. La masa obtenida de las semillas se usa para tratar quemaduras.¹³

Numerosas investigaciones científicas evidencian la actividad antiofídica del extracto etanólico de hojas y tallos.¹⁴ El extracto etanólico de las hojas de achiote presentó actividad antioxidante¹⁴. Igualmente, mostró actividad analgésica¹⁵ e hipoglucemiante en ratones.¹⁶ Asimismo en el Perú demostraron que el extracto de *Bixa Orellana* tiene efecto antibacteriano¹⁷ y antifúngico.¹⁸

3.2.2 Fisiología de la Inflamación

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por agentes no necesariamente infecciosos que pueden ser de naturaleza biológica (bacterias, virus, hongos, parásitos), física (quemaduras, radiaciones, cirugías), química (sustancias tóxicas, alérgenos) o mecánica (traumas, cuerpos extraños). Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora del tejido u órgano dañado; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica.¹⁹⁻²²

Actualmente se pueden reconocer sus 4 signos cardinales de Celso: calor, rubor, tumor y dolor. Como veremos posteriormente,

- Calor: es el aumento de temperatura de la zona inflamada, se debe a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno.
- Rubor es el enrojecimiento, debido a los fenómenos de aumento de presión sanguínea del área.

- Tumor es la formación del edema y acumulo de células inmunes.
- Dolor aparece por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor.²⁰

3.2.2.1. Mediadores de la inflamación

Los mediadores son sustancias biológicamente activas responsables de los cambios metabólicos, vasculares y celulares que caracterizan propiamente a la inflamación, pequeñas moléculas que consisten en lípidos (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxano), aminoácidos modificados (histamina, serotonina) y pequeñas proteínas (citoquinas, factores de crecimiento, interleuquinas) que representan información específica destinada a las células capaces de utilizar esta información gracias a la presencia de receptores específicos en su membrana plasmática. Los mediadores de la inflamación son bien de origen plasmático (sintetizados por el hígado y liberados al plasma) o celular.²⁰ (Cuadro N°3)

Cuadro N°3

Papel de los mediadores en las diferentes reacciones de la inflamación

Papel en la inflamación	Mediadores
Vasodilatación	<ul style="list-style-type: none">• Prostaglandinas• Óxido nítrico• Histamina
Aumento de la permeabilidad vascular	<ul style="list-style-type: none">• Histamina y Serotonina• C3a y C5a (mediado por vasoaminas)• Bradiquinina• Leucotrienos C4, D4, E4• Factor activador de las plaquetas (PAF)• Sustancia P
Quimiotaxis, reclutamiento de leucocitos y activación	<ul style="list-style-type: none">• TNF, IL-1• Quimioquinas• C3a, C5a• Leucotrieno B4• Productos bacterianos, como péptidos N-formilmetil
Fiebre	<ul style="list-style-type: none">• TNF, IL-1• Prostaglandinas
Dolor	<ul style="list-style-type: none">• Prostaglandinas• Bradiquinina
Daño tisular	<ul style="list-style-type: none">• Enzimas lisosomiales de los leucocitos• Especies reactivas del oxígeno• Óxido nítrico

Fuente: Farmacología de la inflamación y analgesia.²⁰

➤ Histamina

La histamina es una molécula hidrófila que consiste de un anillo imidazol y un grupo amino unido a un grupo etileno formada a partir de la histidina por acción de la histidina descarboxilada.

23, 24

Se encuentra en casi todos los tejidos del organismo pero en concentraciones elevadas en el pulmón y la piel, y en concentraciones más elevadas en el aparato digestivo. A nivel celular se encuentra en grandes cantidades en los mastocitos y basófilos formando complejos con una proteína ácida y una heparina de alto peso molecular denominada macroheparina en el interior de gránulos intracelulares. Esta es liberada por los mastocitos mediante exocitosis durante las reacciones alérgicas o inflamatorias. Como estímulos figuran la interacción de los componentes del complemento C3a y C5a con receptores específicos de la superficie celular y la combinación del antígeno con anticuerpos IgE fijados en las células. ^{23, 25}

La histamina se metaboliza con rapidez por acción de la histaminasa o por la enzima metiladora imidazol N-mentiltransferasa y sus metabolitos se eliminan a través de la orina. ^{23 -25}

- Receptores histaminicos:

Los receptores de la histamina son receptores acoplados a proteína G (GPCR) que se acoplan a un sistema de segundo mensajero. Existiendo 4 tipos de receptores histaminicos:

- Receptores H1 Y H2: Se encuentran distribuidos en la periferia y en el SNC, causan prurito, estimula la secreción

de la mucosa nasal y contrae muchos músculos de fibra lisa como los que están en los bronquios e intestino, pero relaja intensamente otros músculos los que incluye los vasos sanguíneos de pequeño calibre. La histamina también es un potente estimulador de la secreción del ácido gástrico. La broncoconstricción y contracción del intestino son medidas por los receptores H1. La secreción gástrica es consecuencia de la activación de los receptores H2 y algunas respuestas, como la dilatación vascular, son mediadas por la estimulación de los receptores H1 Y H2. ²³⁻

25

- Receptores H3 Y H4: Los receptores H3 se expresan principalmente en el SNC, en particular en los núcleos basales como el hipocampo y corteza cerebral. Actúan como autodepresores en las neuronas histaminérgicas, inhiben la liberación de histamina y modulan la regulación de otros neurotransmisores a su vez estos receptores tienen actividad constitutiva elevada y la liberación de histamina presenta inhibición tónica. Los antagonistas de H3 estimulan el estado de vigilia y, por lo contrario, los agonistas estimulan el sueño (dormir). Los receptores H4 están en las células inmunitarias activas como los eosinófilos, neutrófilos y también en las vías gastrointestinales y el SNC. La activación de los receptores H4 se ha asociado con inducción del cambio de la forma celular, quimiotaxis, secreción de citosinas y regulación descendente de las moléculas de adhesión por lo que se sugiere que los antagonistas H4 pueden ser inhibidores útiles de las respuestas inflamatorias y alérgicas. ^{23- 25}

TABLA N°2
Características de los receptores histamínicos

	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄
Tamaño (aminoácidos)	487	359	373, 445, 365	390
Acoplamiento a proteína G (segundos mensajeros)	G _{q/11} (↑Ca ²⁺ , ↑cGMP)	G _s (↑cAMP)	G _{i/o} (↓cAMP)	G _{i/o} (↓cAMP; ↑Ca ²⁺)
Distribución	Músculo de fibra lisa, células endoteliales, SNC	Células parietales del estómago, músculo miocárdico, células cebadas, SNC	SNC: plexo mientérico presináptico	Células de origen hematopoyético
Agonista representativo	2-CH ₃ -histamina	Dimaprit	(R)-α-CH ₃ -histamina	Clobenpropit (parcial)
Antagonista representativo	Clorfeniramina	Ranitidina	Tioperamida Clobenpropit	JNJ777120 Tioperamida

Fuente: Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11va Ed.

➤ Serotonina

La 5- hidroxitriptamina es una amina compuesta por un anillo indólico y una cadena lateral etilamino, se localiza y es sintetizada por las células enterocromafines del tracto gastrointestinal con mayor densidad en duodeno y en las neuronas serotoninérgicas del SNC, mientras que solo se almacena en las plaquetas.²⁶

La síntesis se produce a partir del aminoácido L-triptofano; sufre un proceso de oxidación en el C5 del anillo indólico mediante la triptófano-hidroxilasa que lo convierte en 5-hidroxitriptofano (5-HTP) posteriormente es dextricarboxilado en

la cadena lateral por la L-aminoácido dextracarboxilasa y convertido en 5-hidroxitriptamina (5-HT).^{24, 26}

La serotonina se almacena en estructuras vesiculares que la protegen de la enzima monoaminoxidasa (MAO) así pasando a la sangre donde es captado por el hígado y el endotelio vascular, en especial al pulmonar ahí es transformada por la (MAO) y la aldehidodeshidrogenasa, la fracción que escapa de la captación es incorporada a las plaquetas, de las que son liberadas cuando sufren un proceso de agregación provocado por diferentes agentes.^{24, 26}

En el SNC las neuronas serotonérgicas sintetizan la 5-HT la cual queda almacenada en vesículas para protegerlas de la acción de MAO intraneuronal. La amina es liberada en la terminación nerviosa por despolarización y entrada de Ca^{+2} , la serotonina es metabolizada por la (MAO) por el subtipo A y el aldehído deshidrogenasa para convertirse en 5-HIAA.^{24, 26}

Se han localizado neuronas con 5-HT junto con sustancia P con función transmisora con Hormona liberadora de tirotrópina (TRH) o encefalinas, en las células enterocromafines la encontramos junto con la sustancia P y motilina.^{24, 26}

En la glándula pineal, la 5-HT es sintetizada como un precursor de la melatonina hormona con amplia actividad endocrina por su capacidad de actuar sobre el hipotálamo.^{24, 26}

- **Receptores Serotonérgicos**

Se ha identificado hasta siete tipos de receptores 5- HT1 a 5-HT7, aunque para algunos de ellos es perfil farmacológico y funcional no están bien definidos.^{24, 26}

Se ha podido identificar 5 subtipos de 5-HT1 (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT1E y 5-HT1F) y tres 5-HT2 (5-HT2A, 5-HT2B y 5-HT2C). Todos los receptores están acoplados a proteína G excepto 5-HT3.^{24, 26}

Los receptores 5-HT1A se encuentran en el hipocampo, núcleo del rafe, septo y corteza en el cerebro, también lo encontramos en algunas terminaciones nerviosas noradrenérgicas y en la pared de algunos vasos. Los receptores 5-HT1B en ganglios de la base, sustancia negra y corteza, estos dos receptores son predominantes en la especie humana.^{24, 26}

Los receptores 5-HT1D, 5-HT1E y 5-HT1F todos en el SNC, los receptores 5-HT2A en SNC (corteza y ganglios basales), fibras musculares lisas (vasculares, traqueales, gastrointestinales y uterina) y plaquetas; los receptores 5-HT2B en tubo digestivo (fundus gástrico) y vasos y los receptores 5-HT2C en plexos coroideos.^{24, 26}

Los receptores 5-HT3 se localizan periféricamente en plexos nerviosos entéricos, terminaciones nerviosas sensitivas y vegetativas. Los 5-HT4 en el SNC (neuronas de los cuerpos cuadrigeminos anterior y posterior) y en el tubo digestivo en neuronas del plexo mientérico, lo mismo en el músculo liso y células secretoras, se cree que estimula la secreción en el tubo digestivo y facilita el reflejo peristáltico. Los receptores 5-HT6 y 5-HT7 se localizan en el SNC (tálamo e hipotálamo).^{24, 26}

- Efectos farmacológicos

- Sistema cardiovascular

- Las acciones en la gran mayoría produce vasoconstricción, tanto arteriolar como venosa: en territorios cerebrales, viscerales y cutáneos, también produce vasodilatación arteriolar. La 5-HT tiene la

capacidad de potenciar la acción vasoconstrictora como la noradrenalina y otros agentes que contraen la fibra vascular, como la angiotensina II o la PGF₂.

Por último, tiene cierta capacidad de activar directamente los α -adrenoceptores.^{24, 26}

En el corazón, la 5-HT ejerce la acción inotrópica y cronotrópica. y puede producirse una bradicardia acompañada de hipotensión por respuesta refleja vagal (5-HT₃).

- Órganos con muscular lisa no vascular

En la pared gastrointestinal se da la contracción y la relajación; la contracción se debe a la estimulación de receptores 5-HT₂ en fibras musculares y a la estimulación de terminaciones nerviosas en el músculo intestinal y esofágico están los receptores 5-HT₄ y en neuronas ganglionares a través de receptores 5-HT₃. En músculo liso bronquial, la 5-HT también produce contracción por activación de receptores 5-HT₂.

- Sistema Nervioso Central

Actúa como neuroregulador de diversas funciones. El sistema serotoninérgico, parece estar implicado en las siguientes funciones: control eferente de la sensibilidad dolorosa (5-HT₁); regulación del sueño, la posición, el tono postural, actividad sobre los ganglios basales, regulación endocrina: secreción de ACTH, hormonas gonadotropas, hormona del crecimiento y prolactina (5-HT₁ y 5-HT₂). También la 5-HT está implicada en el control de la ansiedad, especialmente mediante los receptores 5-HT_{1A} encontradas en diferentes zonas del

sistema límbico, por último demuestran que los diversos receptores (5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₆ y 5-HT₇) actúan en la regulación de la actividad cognitiva y en la fisiopatología de ciertos estados psicóticos.^{24, 26}

➤ **Eicosanoides**

En el ser humano el principal precursor es el ácido araquidónico (AA), se ingiere con la dieta o deriva del metabolismo del ácido linoleico. Se almacena formando parte de los fosfolípidos de membrana.^{5,23, 26}

Los principales eicosanoides son las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos, aunque también se producen otros derivados del araquidonato, por ejemplo, las lipoxinas. En todos los casos, en la síntesis de eicosanoides es la liberación del araquidonato, en un proceso que puede tener uno o dos pasos a partir de fosfolípidos por la enzima fosfolipasa A₂ (PLA₂).²³

La enzima PLA₂ citosólica puede generar no sólo ácido araquidónico sino también lisogliceril-fosforilcolina (liso-PAF), el precursor del factor activador de plaquetas, otro mediador de la inflamación.²³

La PLA₂ citosólica se activa por fosforilación como respuesta a transducción de señales desencadenadas por la acción de trombina en las plaquetas, C5a en los neutrófilos, bradicinina en los fibroblastos y reacciones antígeno-anticuerpo en los mastocitos. El daño celular desencadena, igualmente, este proceso de activación.²³

El ácido araquidónico libre se metaboliza de diferentes formas principalmente, la ciclooxigenasa y varias lipooxigenasas.^{5, 23}

La vía ciclooxigenasa (COX) existen dos isoformas principales, COX-1 y COX-2, que transforman ácido araquidónico en prostaglandinas PGE2, PGD2, PGF2, Prostaglandinas PGI2 y Tromboxanos A2. Estos productos son responsables parcial o totalmente de los siguientes efectos farmacológicos: vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular, reacciones alérgicas, quimiotaxis de los granulocitos, destrucción de cartílagos y articulaciones, e incremento o supresión de la proliferación de los linfocitos B o T.^{5, 23, 26}

Lipoxigenasas (LOX). Varios subtipos generan leucotrienos (LT), lipoxinas u otros compuestos.^{23, 26}

Las vías de la lipooxigenasa (LOX) producen 12- HPETE, 12- HETE, 5- HPETE y leucotrienos (LT), con acciones sobre el árbol microvascular y producción de exudación plasmática y contracción de la mayoría de músculos lisos.^{5, 23, 26}

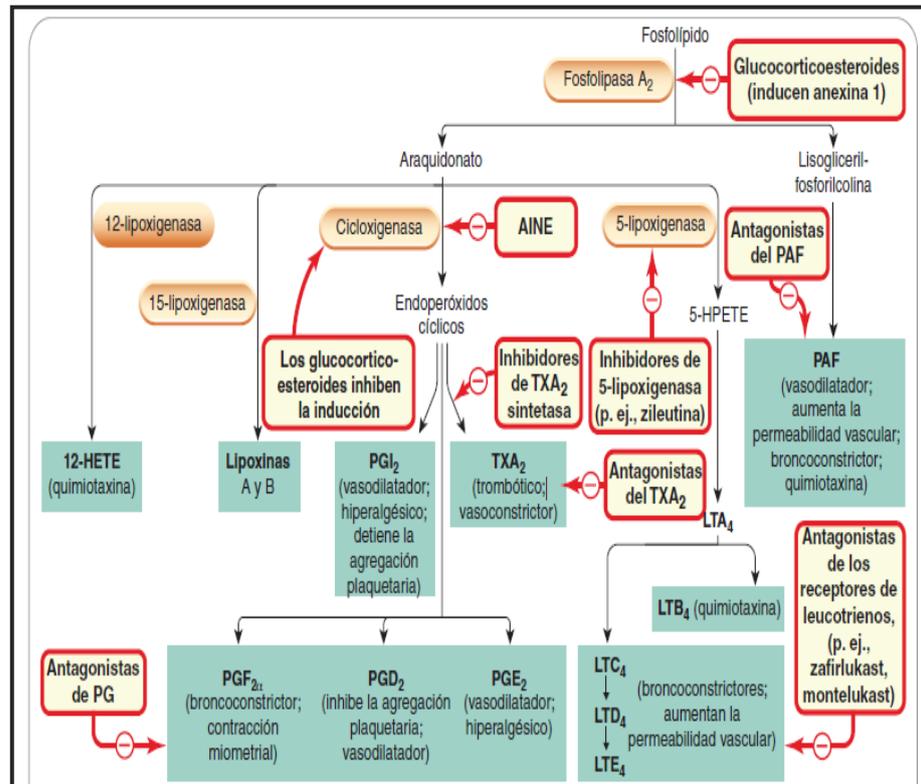


Figura N°3: Diagrama de los mediadores inflamatorios derivados de los Fosfolípidos.

Fuente: R Rang, JM Ritter, RJ Flower, G Henderson. Farmacología. 6ta Ed. 2015

➤ **Citocinas**

Denominadas interleukinas que cumplen un papel en la respuesta inmunológica, la reacción inflamatoria y la hemopoyesis. El origen celular de las interleukinas es muy diferente. Una de ellas son las producidas por linfocitos T y otras son los monocitos activados por estimulación antigénica se denominaron linfocinas y monocinas.²⁶

Se han descrito más de 50 citocinas con escasa relación estructural entre ellas, su síntesis se induce en respuesta a estímulos activadores, se liberan y actúan sobre receptores

específicos de membrana celular, cuya expresión es también a veces un fenómeno transitorio de up-regulation. Las citocinas ejercen su actividad de un modo coordinado y secuencial que mantiene la homeostasia de procesos de proliferación, diferenciación y reparación celulares.²⁶

Las citocinas derivadas de monocitos: Son células presentadoras de antígeno (APC) a los linfocitos T. Los monocitos activados liberan una variedad de factores que contribuyen en la respuesta inflamatoria y en la lesión tisular: enzimas lisosómicas, radicales libres, mediadores lipídicos (eicosanoides y factor activador de plaquetas [PAF]) y varias citocinas, como se indica a continuación.²⁶

La interleucina 1 (IL-1) divididas en dos formas, IL-1 α e IL-1 β . También existe un antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), quizás un modulador endógeno de la actividad de IL-1 siendo este su fuente principal el macrófago activado. Cumpliendo varias funciones biológicas como en la respuesta inmunitaria e inflamatoria tanto local (promueve la síntesis de mediadores lipídicos, óxido nítrico y otras citocinas, y de moléculas de adhesión leucocitaria), como sistémica (estimula la síntesis de proteínas de fase aguda, causa neutrofilia y fiebre).²⁶

La IL-6 aparte de ser un mediador actúa como hormona circulante (pirógeno y proteínas de fase aguda) y es partícipe en la proliferación y diferenciación de linfocitos T y B, así como en la hemopoyesis.²⁶

Citocinas derivados de linfocitos: La activación de determinados linfocitos T (colaboradores, helper o CD4+) por estimulación antigénica da lugar a la obtención de una variedad de citocinas. La más estudiada es la IL-2, considerado en la

función de la respuesta inmunológica. También, tiene actividad sobre linfocitos B, linfocito natural killer cells y monocitos. La IL-3 es un estimulador pluripotencial de células hemopoyéticas. La IL-4 genera la proliferación y maduración de linfocitos B, y el crecimiento y activación de linfocitos T (diferenciación de células TH2), y otros tipos celulares. La IL-5 es un factor activador de eosinófilos con poco efecto sobre linfocitos B en la especie humana. Los linfocitos T producen IL-6, TNF- β , factor estimulante de la formación de colonias de granulocitos y macrófagos.²⁶

- **Receptores de Citocinas**

Estos receptores se agrupan en diferentes «superfamilias» por homología estructural. La superfamilia inmunoglobulina agrupa a los receptores para IL-1 y M-CSF. La superfamilia hemopoyetina, a la que pertenece el receptor de eritropoyetina, incluye los receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, interferones, G-CSF y GM-CSF. Los receptores de IL-6 tienen características de ambas superfamilias. Los receptores del TNF establecen una familia diferente. Los receptores para quimiocinas son receptores acoplados a proteína G. Los mecanismos de transducción intracelular en varios casos se producen de manera diferente una es la activación de factores de transcripción, como el factor nuclear κ B (NF κ B) y el AP-1. En otros casos, se produce a través de proteína G la activación de PLC β , fosfolipasa D y proteincinasa C.²⁶

- **Bradicinina**

Son péptidos vasoactivos formados por escisión proteolítica de proteínas circulantes denominadas cininógenos mediante una cascada enzimática.

La bradicinina se forma a partir del cininógeno (α -globulina plasmática) en plasma por la serínproteasa calicreína. La calicreína se sintetiza a partir de su precursor inactivo precalicreína por acción del factor Hageman (factor XII). El factor Hageman, la precalicreína y los cininógenos salen de los vasos durante la inflamación como efecto aumenta la permeabilidad vascular. La calicreína puede activar el sistema del complemento y convertir el plasminógeno en plasmina. Asimismo se han identificado un péptido con acciones semejantes a las de bradicinina.²³

La acción vasodilatadora de la bradicinina se debe a la formación de PGI₂ y a la liberación de NO, tiene acción espasmógena para diversos tipos de músculo liso, incluido el del intestino y el del útero; en algunas especies también se contrae el músculo bronquial. En este mediador no se ha evidenciado con claridad cuál es su función en la inflamación y la alergia.²³

Existen dos tipos de receptores de bradicinina, llamados B1 y B2 acoplados a proteínas G. Los receptores B1 se manifiestan en concentraciones muy bajas, pero sufren una potente inducción en tejidos inflamados o dañados por citocinas como IL-1. Es probable que los receptores B1 jueguen un papel conocido en la inflamación y la hiperalgesia. Los receptores B2 están presentes de forma adicional en la mayoría de las células y los tejidos normales y son activados por bradicinina y calidina.²³

➤ **Óxido Nítrico**

El Óxido Nítrico es una molécula señal gaseosa que ingresa con facilidad a través de la membrana celular regulando procesos con funciones cardiovasculares, inflamatorias, inmunitarias y neuronales.²⁵

La isoforma más importante en las reacciones inflamatorias es la forma inducible de la sintetasa de NO (iNOS) como se muestra en el (Cuadro N°4).²³

CUADRO N°4

Propiedades de la tres Isosformas de la sintetasa de Oxido Nítrico (Nos)

	NOMBRES DE LAS ISOFORMAS		
PROPIEDAD	NOS- 1	NOS- 2	NOS- 3
Otros nombres	nNOS (NOS neuronal)	iNOS (NOS inducible)	eNOS (NOS endotelial)
Tejido	Neuronas, musculo esquelético	Macrófagos, células de musculo liso	Células endoteliales, neuronas.
Expresión	Constitutiva	Inducción transcripcional	constitutiva
Regulación de calcio	Si	No	Si
Cromosoma	12	17	7
Masa proximal	150-160 kDa	125- 135 kDa	133 kDa

Fuente: BG Katzung. Farmacología basica y clínica 11va Ed.

Las Isoformas del Oxido Nítrico Sintetasa (iNOS) están presentes en el epitelio bronquial de los asmáticos, en la mucosa del colon en los pacientes con colitis ulcerosa y en los sinoviocitos en las artropatías inflamatorias. Es posible que el NO actúe como un efecto proinflamatorio: la respuesta de este implica el reclutamiento de leucocitos y la liberación de mediadores, dos de ellos son el factor tumoral y la interleucina I, algunos estudios demuestran que el NO estimula la síntesis de prostaglandinas inflamatorias por la activación de COX-2 aumentando la permeabilidad vascular y es un potente vasodilatador, el NO endotelial inhibe la adherencia de neutrófilos y plaquetas y la agregación plaquetaria.^{23, 25}

3.2.2.2. Tipos de Inflamación

Inflamación aguda: Tiene una duración relativamente rápida o inmediata (minutos, horas o unos pocos días), que se produce frente a una infección o lesión tisular, se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la llegada de leucocitos predominantemente neutrófilos; está constituida por tres componentes:

- Cambios en el flujo y calibre vascular que aumentan el flujo sanguíneo.
- Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio.
- Emigración de los leucocitos del espacio vascular al extravascular, acumulación de los mismos en el foco de la lesión y activación para eliminar el agente lesivo.^{27- 29}

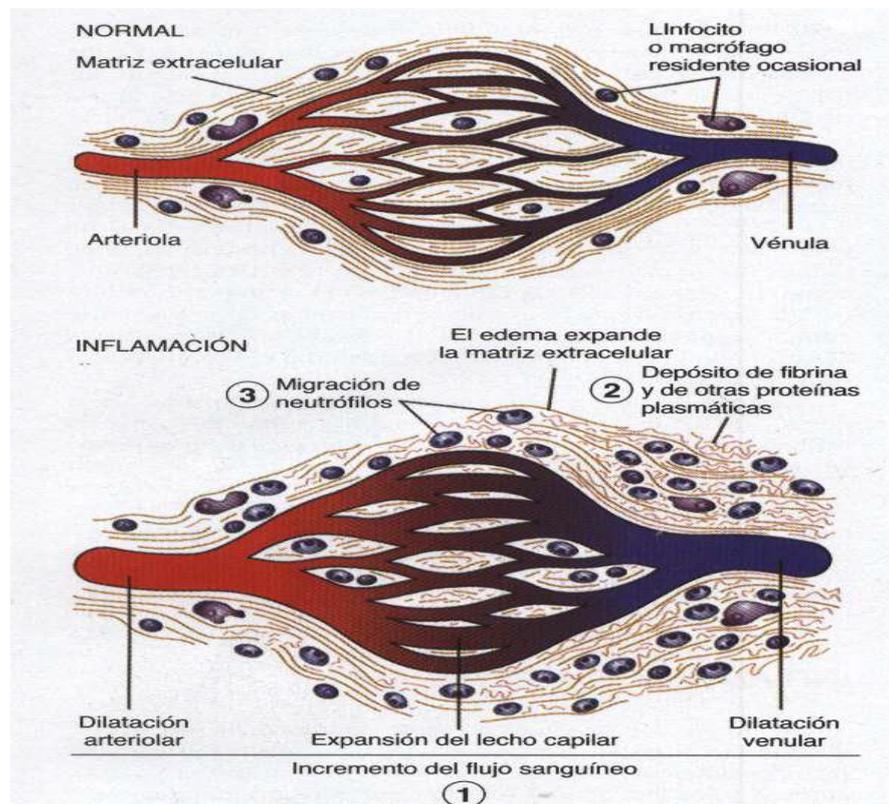


Figura N°4: Principales manifestaciones locales de la inflamación aguda, en comparación con la normalidad.

Fuente: Tucker Collins. Inflamación aguda y crónica

El resultado de todo ello es el acumulo de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocito, en los primeros 10-15 minutos se produce la dilatación de arteriolas, vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre aumentando la viscosidad de la sangre y reduciendo la velocidad del flujo sanguíneo y en consecuencia se da la salida de líquido, proteínas y células desde el sistema vascular hasta el tejido intersticial o las cavidades del organismo se denomina exudación.^{28, 30}

Un exudado es un líquido extravascular de carácter inflamatorio que presenta una concentración elevada de proteínas y restos celulares esto implica que se ha producido una alteración

significativa en la permeabilidad normal de los vasos de pequeño calibre en la zona de lesión.²⁹

Inflamación crónica: tiene un tiempo más alargado por lo que dura semanas, meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejidos conectivos; característicos:

- El infiltrado celular está compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
- La reacción inflamatoria es más productiva que exudativa, es decir, que la formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos.

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas:

- a) Progresión de una inflamación aguda;
- b) Episodios recurrentes de inflamación aguda, y
- c) Inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc).²⁸

3.2.3. Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs)

Se trata de un grupo heterogéneo de fármacos que se caracterizan por poseer un grado variable de actividad analgésica (alivio de determinados tipos de dolor), antipirética (disminución de la temperatura es decir fiebre) y antiinflamatoria (modificación de la reacción inflamatoria); sin embargo, difieren en la importancia relativa que cada una de

estas propiedades representa en el conjunto de sus efectos farmacológicos.^{23, 31}

En la actualidad se comercializan más de 50 AINEs diferentes; estos fármacos presentan una acción de alivio sintomático del dolor y la inflamación en artropatías crónicas, como la artrosis y la artritis reumatoide, así como en entidades inflamatorias más agudas, como las lesiones, las fracturas y los esguinces causados por actividades deportivas y otras lesiones de partes blandas. De la misma manera, alivian el dolor postoperatorio, odontológico y menstrual, así como el producido por las cefaleas y la migraña. Algunos AINE pueden adquirirse sin prescripción médica, a menudo se utilizan para otros tipos de dolor y molestias mínimas.²³

Clasificación

Divididos en inhibidores de la COX-1 / COX-2 e inhibidores selectivos de la COX-2, dentro del primer grupo pueden agruparse según estructura química similares o grado de inhibición de ambas isoformas de COX (TABLA N°3)

TABLA N°3

Clasificación de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE)

Inhibidores de la COX-1/ COX-2	Inhibidores de la COX-2	selectivos
Salicilatos	Derivados del ácido acético	Meloxicam
AAS	Indometacina	Nabumetona
Acetilsalicilato de lisina	Sulindaco	Nimesulida
Diflunisal	Aceclofenaco	Celecoxib
Fosfosal	Diclofenaco	Etoricoxib
salicilamida	Etodolaco	Lumiracoxib
Salicilato sodico	Keterolaco	Parecoxib
salsalato	Tolmentina	Rofecoxib
Trisalicilato de colina y magnesio		Valdecoxib
Paraminofenoles	Derivados del ácido antranílico	
Paracetamol	Ácido flufenámico	
	Ácido meclofenámico	
	Ácido mefenámico	
	Ácido nifúmico	
Pirazolonas	Oxicams	
Azapropazona	Droxicam	
Fenilbutazona	Lornoxicam	
Metamizol	Piroxicam	
Propifenazona	Tenoxicam	
Oxipizona	Vitoxicam	
Derivados del ácido propiónico	Derivados del ácido nicotínico	
Butibufeno	Clonixina	
Fenoprofeno	Isonixina	
Fenfuteno		
Flubiprufeno		
Ibuprofeno		
Ketoprofeno		
Naproxeno		
Piketoprofeno		
Pirprofeno		
Ácido tiaprofenico		

Fuente: Castells S, Hernández M. Farmacología en Enfermería. 3a Ed.³¹

La COX-1 es una isoformas de expresión constitutiva, es el producto de un gen que se transcribe de forma estable y continua, y es responsable de la síntesis de eicosanoides implicados en el control homeostático de múltiples funciones fisiológicas (p. ej., citoprotección de la mucosa gástrica, trombogénesis plaquetaria, hemodinámica renal o diferenciación de macrófagos).^{24, 26}

La COX-2 es el producto de un gen con un elevado nivel de regulación, cataliza la producción local de PG en situaciones fisiológicas y patológicas y es inducida por diversos mediadores proinflamatorios (interferón γ , FNT, IL-1, factores de crecimiento, etc.).^{24, 26}

➤ **Salicilatos**

El Ácido acetilsalicílico (AAS) es irritante que solo se usa de forma externa, acetila e inhibe de forma irreversible la COX, mientras que la acción inhibitoria de estas por los salicilatos no acetilados es reversible, para lograr su acción antiinflamatoria requiere de dosis más elevadas.^{24, 26}

Los salicilatos suelen aliviar los tipos de dolor de poca intensidad gracias a su acción en tejidos periféricos aunque también actúan los efectos directos del SNC, ejemplos de tipos de dolor: las cefalalgia, mialgia y artralgia.²⁴

En dosis tóxicas los salicilatos ocasiona sudación, por lo que ocurre una deshidratación. En la respiración incrementan el consumo de oxígeno y la producción de CO₂, aumentan la ventilación, disminuyen la tensión plasmática de este gas PCO₂ favoreciendo la aparición de alcalosis respiratoria.²⁴

En el aparato cardiovascular se utilizan dosis pequeñas (menos de 100 mg/día) por su acción cardioprotectores, con dosis altas (mayores de 3g/día) como se le administra en casos de fiebre reumática aguda, en dosis altas pueden causar edema pulmonar no cardiógeno sobre todo en os ancianos que tienen un largo tratamiento.²⁴

Se absorbe rápidamente por vía oral en parte del estómago y en la parte superior del intestino delgado, se identifican concentraciones apreciables en menos de 30 min y a la hora una cifra máxima. El volumen de distribución es de 170 ml/kg corporal; en promedio. Los productos metabólicos son el ácido salicílico (conjugado con glicina), el glucorónido de éter y el glucorónido de éster.^{24, 26}

Los salicilatos se excretan por la orina en la forma de ácido salicílico libre (10%), ácido salicílico (75%) los glucorónidos fenólico (10%) y ácilico (5%).^{24, 26}

➤ **Paraaminofenoles**

Derivados de la anilina, siendo el más utilizado el acetaminofén o paracetamol. Tiene efectos antiinflamatorios débiles y se piensa que tiene poca capacidad para inhibir la acción de COX si existen altas concentraciones de peróxidos, como se detectan en los sitios de inflamación. Se ha sugerido que la inhibición de la COX puede ser desproporcionadamente intensa en el encéfalo, lo cual explicaría su acción antipirética.^{24, 26}

Se absorbe rápidamente en el intestino delgado, su concentración máxima alcanza de 30- 90min, su absorción es por vía rectal, aunque más lentamente que en el tubo digestivo alto. Se

metaboliza en el hígado en un 95%, siendo sus principales metabolitos conjugados con ácido glucorónico (60%) o sulfato (35%).²⁶

El paracetamol aunque es usado mayormente como un analgésico y antitérmicos a dosis terapéuticas tiene reacciones adversas muy bajas, por encima de los 2g diarios se pueden observar complicaciones a nivel gastrointestinal similares a los AINES clásicos. Con dosis mayores aparecen mareos o excitación.²⁶

➤ **Derivados del Ácido Acético**

- **Diclofenaco (Fenilacético)**

Es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo de mayor uso, el lumiracoxib es un análogo del diclofenaco siendo inhibidor selectivo de la COX-2.

Tiene actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria, disminuye las concentraciones intracelulares de Acido araquidónico libre de leucocitos. Este fármaco se asemeja al celecoxib, teniendo poca incidencia de efectos adversos en las vías gastrointestinales además investigaciones demostraron que si se administra diclofenaco por largo tiempo tiende a causar un peligro en el aparato cardiovascular.²⁴

Farmacocinética: es absorbido rápidamente fijándose a la proteína teniendo una semivida breve. En la administración vía oral el diclofenaco se acumula en el líquido sinovial por lo que podría explicar el tiempo que dura el efecto terapéutico que su semivida plasmática. Se metaboliza en el hígado hasta 4-hidroxiciclofenaco siendo el metabolito principal, los metabolitos se excretan por la orina (65%) y por la bilis (35%).

Usos terapéuticos: Es aprobado en Estados Unidos para el tratamiento sintomático a largo plazo de artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante. La dosis diaria corriente contra dichas enfermedades es de 100 a 200 mg en varias fracciones. Puede ser útil también por breves lapsos en lesiones musculoesqueléticas agudas, hombro con dolor agudo (tendinitis bicipital y bursitis subdeltoidea), dolor posoperatorio y dismenorrea. Se distribuye un preparado (ARTHROTEC) que combina 50 mg de diclofenaco en tableta con cubierta entérica y misoprostol, análogo de la prostaglandina. Al mismo tiempo, que disminuya la frecuencia de úlceras y erosiones de vías gastrointestinales. Además, se cuenta con una solución oftálmica del fármaco para tratar la inflamación posoperatoria después de extracción de cataratas.²⁴

Efectos adversos comunes: El diclofenaco produce efectos más habituales en las vías gastrointestinales a un 20%. En 15% de los pacientes, hay incremento de las actividades de aminotransferasa hepática en plasma; aunque casi siempre el aumento es moderado, las cifras pueden ser de más de tres tantos en un porcentaje pequeño de pacientes. Los incrementos de la cifra de aminotransferasa suelen ser reversibles y sólo en contadas ocasiones se acompañan de manifestaciones clínicas de hepatopatía. El bromfenac miembro de la familia del ácido fenilacético de NSAID fue retirado del mercado porque originaba lesión hepática irreversible en algunos pacientes. Otras respuestas adversas a él incluyen efectos en SNC, erupciones cutáneas, reacciones alérgicas, retención de líquidos y edema y, en infrecuentes ocasiones, trastornos de la función renal. No se recomienda usarlo en niños, ni en mujeres que amamantan o embarazadas. Por último se advierte que el diclofenaco no es una buena alternativa para usar en vez de algún inhibidor selectivo de

la COX-2 en personas con riesgo de desarrollar alguna enfermedad cardiovascular o cerebrovascular.²⁴

• **Indometacina (Indolacético)**

Fue introducido para tratar artritis reumatoide y trastornos similares. A pesar de que el fármaco se usó ampliamente y es eficaz, su toxicidad suele limitar su uso. La indometacina posee notables propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas, que son semejantes a las de los salicilatos. Inhibidores de la síntesis de PG.²⁶

Farmacocinética y metabolismo: Después de ingerida, la indometacina se absorbe en forma rápida y casi completa por vías gastrointestinales (90% en 4h), se une a proteínas plasmáticas en 5h y también lo hace en forma extensa a los tejidos. Es convertida primordialmente en metabolitos inactivos, incluidos aquellos que se forman por O-desmetilación (en promedio, 50%), conjugación con ácido glucurónico (en promedio, 10%) y N-deacilación. Algunos de los metabolitos mencionados son detectables en plasma, y los metabolitos libres y conjugados se eliminan por orina, bilis y heces. Se sabe que 10 a 20% del fármaco se excreta sin modificaciones en orina, y ello se debe en parte a la secreción tubular. La vida media en plasma es variable, quizá por la recirculación enterohepática, pero es de unas tres horas en promedio.²⁶

Interacciones medicamentosas: La concentración plasmática total del fármaco y la de sus metabolitos inactivos aumenta si se administra de manera concomitante probenecid, tal vez por la menor secreción tubular del antiinflamatorio. La indometacina no interfiere en el efecto uricosúrico del probenecid. Se ha dicho que

la indometacina no modifica los efectos de los anticoagulantes orales. Sin embargo, puede ser peligrosa por el mayor peligro de hemorragia gastrointestinal. La indometacina antagoniza los efectos natriurético e hipertensivo de la furosemida; también puede disminuir los efectos antihipertensivos de los diuréticos tiazídicos y aminora el efecto antihipertensivo de los agonistas de receptores beta y AT1 los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.^{24, 26}

Aplicaciones terapéuticas: Ante la gran incidencia y gravedad de los efectos colaterales que conlleva la administración de indometacina por largo tiempo (INDOCIN), no se le usa a menudo como analgésico o antipirético. Sin embargo, tiene utilidad probada como antipirético en algunas situaciones (como enfermedad de Hodgkin) cuando la fiebre sea rebelde a otros fármacos. La mayor parte de tales ensayos mostró que el fármaco reduce el dolor, disminuye la hinchazón y la hipersensibilidad articulares; incrementa la potencia de prensión manual y reduce la duración de la rigidez matinal.

En forma global, 66% de los enfermos se beneficia de la indometacina de manera característica si se inicia el tratamiento con 25 mg dos o tres veces al día. Sin embargo, si con 75 a 100 mg del producto no se logra alivio en término de dos a cuatro semanas, habrá que considerar otro tratamiento. Los enfermos de síndrome de Bartter han sido tratados de manera satisfactoria con indometacina y otros inhibidores de la prostaglandina sintetasa.

Efectos adversos: Un porcentaje altísimo de enfermos (35 a 50%) que reciben las dosis terapéuticas usuales de indometacina presenta síntomas indeseables y en promedio 20% debe

abandonar su empleo. Los síntomas y complicaciones gastrointestinales consisten en anorexia, náusea y dolor abdominal. Se han señalado úlceras solas o múltiples en todas las vías gastrointestinales superiores, a veces con perforaciones y hemorragia.. El efecto más frecuente en SNC es la cefalea frontal intensa que surge en 25 a 50% de las personas que ingieren indometacina durante largo tiempo. También es frecuente observar mareos, vértigo, obnubilación y confusión mental. Se ha sabido de casos de depresión profunda, psicosis, alucinaciones y suicidio. Las reacciones hematopoyéticas incluyen neutropenia, trombocitopenia y, en infrecuentes ocasiones, anemia aplásica.²⁴

26

3.3. Definición de términos básicos

- **Medicina Tradicional:** Es el conjunto de conocimientos y practicas fundamentales en el saber medico ancestral de la población, transmitida y practicada generalmente por los curanderos o chamanes.
- **Acción antiinflamatoria:** Es la capacidad que tienen algunos fármacos o productos medicamentosos de origen vegetal o mineral, para inhibir total o parcialmente los procesos inflamatorios agudos o crónicos.
- **Edema:** Supone la presencia de un exceso de líquido en el espacio intersticial o en cavidades serosas; puede ser un exudado o un trasudado. Esto es debido al desplazamiento del líquido rico en proteínas hacia el espacio perivascular que reduce la presión osmótica intravascular, al tiempo que eleva la del líquido intersticial. El resultado neto es la salida de agua e iones hacia los tejidos extravasculares.

- **Flavonoides:** Metabolitos secundarios, caracterizados por tener 15 carbonos, y una estructura difenil propano, biogénicamente provienen de tres unidades de acetato (C6) y una unidad de fenil propano (C6-C3), por ello su esqueleto se representa C6- C3- C6 (4).
- **Infusión:** Extracto que se prepara hirviendo o echando en agua muy caliente alguna sustancia vegetal, como hojas, flores, frutos o cortezas de ciertas plantas, y dejándola unos minutos de reposo.
- **Liofilización:** Es un proceso que tiene como objetivo separar el agua (u otro solvente) de una disolución mediante congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida.
- **Carragenina:** Es un hidrocólido extraído de algas marinas rojas de las especies Gigartina, Hypnea, Eucheuma, Chondrus y Iridaea. Es utilizada en diversas aplicaciones en la industria alimentaria como espesante, gelificante, agente de suspensión y estabilizante, tanto en sistemas acuosos como en sistemas lácticos.
- **Prostaglandinas:** Son un conjunto de sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos de 20 carbonos (eicosanoides), que contienen un anillo ciclopentano y constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos, a menudo contrapuestos.
- **Aponeurosis plantar:** Llamado también fascia plantar es un tejido fibroso del pie que se sitúa debajo de la piel, en el centro del arco

plantar y que se fija al talón y a las primeras falanges. Es la aponeurosis plantar que tiende el arco del pie.

- **Pletismómetro Digital:** Es un medidor de volumen controlado por microprocesador que ha sido durante mucho tiempo el instrumento estándar para la medición de volumen de edema la pata de roedores.

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACION

4.1 Tipo y Nivel de Investigación

4.1.1 Tipo de Investigación

Analítico: Se basa en demostrar la relación que existe entre variables y comparación de los resultados obtenidos.

Longitudinal: Porque la captación de información se recolecta en más de un momento.

Ambispectivo: Porque se hizo antes y después de la intervención.

4.1.2 Nivel de Investigación

Explicativo: Porque se busca explicar el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de *Bixa Orellana* (achiote) sobre su actividad antiinflamatoria.

4.2 Método y Diseño de la investigación:

4.2.1 Método de la investigación

Deductivo: Porque el estudio va de lo general a lo específico.

4.2.2 Diseño de la investigación

Experimental: Porque se manipulara la variable independiente

4.3 Población y Muestra de la Investigación

4.3.1 Población

- Animales: ratones hembras de la especie *Mus músculus* cepa Balb/c
- Recurso vegetal: Hojas de *Bixa orellana* (achiote) procedente de la ciudad de Iquitos.

4.3.2 Muestra

- 30 ratones de la especie *Mus músculus* cepa Balb/c de 1 mes $\frac{1}{2}$ de edad, mayor a 25g de peso.
- Extracto acuoso liofilizado de hojas *Bixa orellana* (achiote).

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

4.4.1 Técnicas

- Liofilización

Es un proceso de secado que se basa en sublimar el hielo de un producto congelado. El agua del producto pasa, por tanto,

directamente de estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido.

- **Infusión:** Extracto que se prepara echando en agua muy caliente alguna sustancia vegetal, como hojas, flores, frutos o cortezas de ciertas plantas, y dejándola unos minutos de reposo.

- **Marcha fotoquímica**

Tiene como objetivo determinar metabolitos secundarios de la especie vegetal ³²

- **Edema pedal**

El modelo “edema de la pata trasera” inducido por carragenina 1 % descrito por primera vez por Winter y Potter, 1967 y posteriormente modificado por Sugishita et al. Fue usado para la determinación de actividad antiinflamatoria en procesos agudos. Se basa en la inducción de la inflamación por inyección subplantar (pata posterior derecha del ratón) de una suspensión de la carragenina 1 % a los diferentes grupos, cuyo principal signo es la formación de edema, el cual es medido con el pletismometro digital.³³

4.4.2 Instrumentos de recolección de datos

- Ficha de datos experimentales: (Anexo N°10)

4.5 Procedimiento de recolección de datos

A. Obtención del recurso vegetal e Identificación Taxonómica

Se recolectaron 10 kilos de la especie *Bixa orellana* “achiote” en el mes de Octubre de 2017, del distrito de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto a unos 106 m.s.n.m

aproximadamente. La muestra recolectada se colocó en bolsas de papel kraft para su traslado a Lima.

Se realizó la identificación taxonómica de la muestra vegetal se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos siendo estudiada y clasificada por el Mg. Asuncion A. Cano Echevarria de constancia según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988) se trata de la especie *Bixa orellana* L. (Anexo N°2).

Se seleccionaron las hojas en buen estado, libres de deterioro y/o hongos, posteriormente fueron lavadas con chorros de agua.

Por último la muestra fue secada a temperatura ambiente por un tiempo de 24 horas. Luego se colocó las hojas en papel kraft para someter a secado en estufa no mayor a 40°C durante 12 horas, luego de pulverizo en un molino manual hasta un tamaño de partícula adecuado y se procedió a pesar la muestra obtenida almacenándolo adecuadamente en un frasco ámbar de boca ancha rotulado en un lugar sin humedad y luz directa.

B. Obtención del extracto acuoso liofilizado

La liofilización del extracto acuoso de *Bixa orellana* L. se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas siendo analizada por Fernando Riesco Vásquez del Laboratorio de Equipamiento Especializado. (Anexo N°4).

La preparación del extracto acuoso de *Bixa orellana* se realizó pesando 400 gr de la muestra adicionándole 4 litros de agua caliente a una temperatura de 70°C a 80°C, durante 3 horas, se dejó enfriar y se procedió a filtrar.

Luego que la infusión fue filtrada se obtuvo finalmente un aproximado de 2 litros, para su posterior congelación (- 10 °C), por más de 24 horas.

El extracto concentrado fue vertido en la bandeja del equipo liofilizador en una cantidad de 500 ml/bandeja, consistiendo en deshidratar el extracto acuoso congelado a bajas temperatura de -55 °C con una presión de 11 pascales por 21 horas. Obteniendo 9,6 gr de liofilizado.

Posteriormente se preparó los extractos de hojas de *Bixa orellana* al 4, 6 y 8% respectivamente.

C. Tamizaje fotoquímico

Se determinó mediante pruebas cualitativas

- **Detección de alcaloides**

Reacción de Dragendorff: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 4 gotas del reactivo (ioduro de bismuto y potasio). Un precipitado naranja rojizo indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

Reacción de Mayer: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 4 gotas del reactivo (ioduro de mercurio y potasio). Un precipitado blanco o cremoso indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

Reacción de Wagner: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 4 gotas del reactivo (iodo ioduro de potasio). Un precipitado marrón indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

- **Detección de flavonoides**

Reacción de Shinoda: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió limaduras de magnesio más 1 ml de HCl concentrado. Un precipitado rojo o carmesí indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

- **Detección de saponinas**

Reacción de Espuma: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 1 ml de agua caliente, agitar la mezcla durante 10 minutos. Espuma de más de 2mm de espesor o altura que persiste por más de 12 minutos indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

- **Detección de taninos**

Reacción de Cloruro férrico: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 1 gota de reactivo (FeCl_3) Una coloración azul o verde oscuro indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

- **Detección de azúcares reductores**

Reacción de Fehling: Se utilizó 1 ml de la muestra problema, se añadió 1 ml de reactivo Fehling A y 1 ml reactivo Fehling B, se calienta. Un precipitado rojo indica que la prueba es positiva.^{7, 32}

- **Detección de fenoles**

Reacción de Cloruro férrico: Se utilizó 2 ml de la muestra problema, se añadió 3 gotas del reactivo (FeCl_3). Un precipitado azul o verde oscuro indica que la prueba es positiva.^{7,32}

D. Determinación del efecto antiinflamatorio

Se realizó en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, teniendo como muestra el Extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* y el control positivo del diclofenaco.

Se usó 30 ratones hembras de la especie *Mus musculus* de la cepa Balb/c de 1 mes $\frac{1}{2}$ de edad, mayor a 25g. de peso, las cuales fueron adquiridas en el bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS). (Anexo N°3)

Los ratones fueron sometidos a un proceso de aclimatación por un periodo de 7 días antes de realizar la prueba, a una temperatura controlada de 20 ± 2 °C, con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12h y humedad de 30 a 65%

La alimentación consistió en alimento para roedores y agua ad libitum, 12 horas antes de la prueba no se le dio alimentos solo agua, se procedió a pesar y marcar a los ratones para diferenciar y reconocer a estos mismos.

Divididas en 5 grupos de 6 individuos donde se le administró:

- **G1:** Extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* 4%
- **G2:** Extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* 6%
- **G3:** Extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* 8%
- **G4:** Control negativo (Suero Fisiológico)
- **G5:** Control positivo Diclofenaco 0.25%

A los 5 grupos se le midió el estado basal de la pata posterior derecha del ratón.

La inflamación fue inducida por inyección de 0,05mL de solución de carragenina al 1% en NaCl 0,9% subcutáneamente dentro de la superficie de la aponeurosis de la pata derecha.

Luego de 1 hora se le administro a cada grupo por vía oral con ayuda de una sonda orogástrica los diferentes tratamientos (Cuadro N°5)

El porcentaje de inhibición de la inflamación de cada grupo (n= 5) fue obtenido con la siguiente formula:

$$\% \text{ de inflamación} = (V_t - V_o / V_o) \times 100$$

V_t = Volumen de la pata inflamada a un tiempo x.

V_o = Volumen normal de la pata

Cuadro N°5

Volúmenes administrados a cada grupo de trabajo para la evaluación del efecto antiinflamatorio

GRUPOS	NUMERO DE RATONES	PESO g	VOLUMEN ADMINISTRADO (ml)	CARRAGENINA 1%
GRUPO 1	6	32	0.32	
Extracto acuoso Liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 4% (400mg/Kg)		39	0.39	
		32	0.32	0.05ml
		31	0.31	
		33	0.33	
		32	0.32	
GRUPO 2	6	35	0.35	
Extracto acuoso Liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 6% (600mg/Kg)		37	0.37	
		38	0.38	
		32	0.32	0.05ml
		33	0.33	
		34	0.34	
GRUPO 3	6	39	0.39	
Extracto acuoso Liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 8% (800mg/Kg)		39	0.39	
		33	0.33	
		32	0.32	0.05ml
		36	0.36	
		29	0.29	
GRUPO 4	6	33	0.33	
Control negativo (suero Fisiológico)		31	0.31	
		37	0.37	
		35	0.35	0.05ml
		33	0.33	
		29	0.29	
GRUPO 5	6	39	0.39	
Control positivo Diclofenaco al 0.25% (25mg/ml)		38	0.38	
		36	0.36	
		33	0.33	0.05ml
		33	0.33	
		39	0.39	

Elaboración propia 2017

El cuadro N°5 muestra la medición del volumen de la pata fue a la 1, 2, 3, 4, 5 y 24 horas posteriores a la administración de carragenina 1% usando una adaptación del pletismómetro digital PANLAB LE 7500.

CAPÍTULO V

PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

5.1 Análisis de tablas y gráficos

Marcha Fitoquímica del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana*

Cuadro N°6
Tamizaje Fotoquímico

METABOLITO	ENSAYO	METODO	RESULTADOS
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	+++
	Reacción de Mayer	Cualitativo	++
	Reacción de Wagner	Cualitativo	+
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	++

SAPONINAS	Reacción de Espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	+++
AZUCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	Cualitativo	++
FENOLES	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	+++

Elaboración propia 2017

En el cuadro N°6 describe los resultados del tamizaje fotoquímico del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* donde se determinó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, azúcares reductores y fenoles según la metodología de Lock O.³²

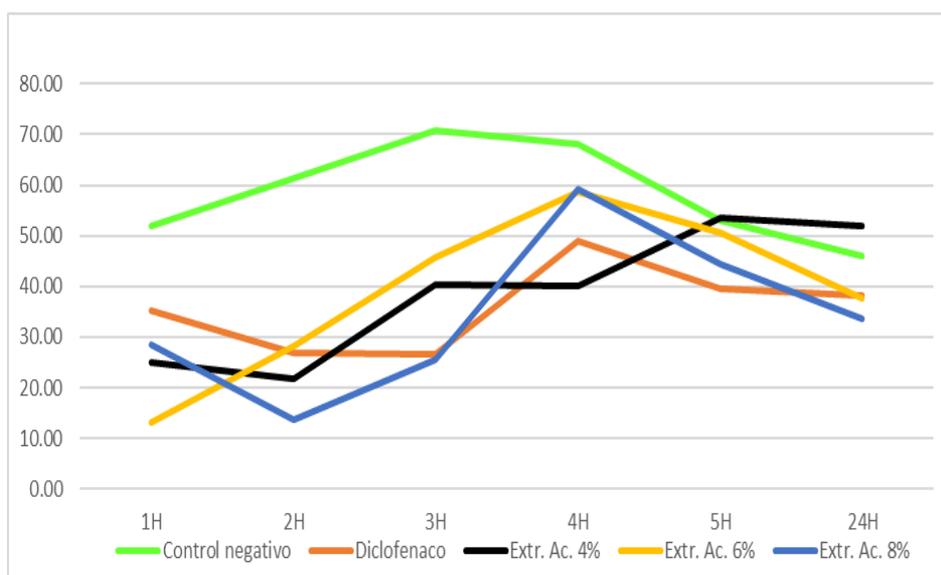
Tabla N°4
Inflamación por hora

	1H	2H	3H	4H	5H	24H
Control negativo	52.00	61.39	70.79	67.97	53.10	46.12
Diclofenaco	35.17	26.86	26.63	48.98	39.61	38.09
Extr. Ac. 4%	25.07	21.90	40.41	39.97	53.59	51.97
Extr. Ac. 6%	13.22	28.30	45.61	58.64	50.46	37.73
Extr. Ac. 8%	28.57	13.59	25.57	59.33	44.39	33.57
Total	30.81	30.41	41.80	54.98	48.23	41.50

Elaboración propia 2017.

En la tabla N°4 se comparan los volúmenes de inflamación de los extractos acuosos liofilizados de *Bixa orellana* al 4% (400mg/kg), 6% (600mg/kg) y 8% (800mg/kg) frente al control positivo (diclofenaco 25 mg/ml) y el control negativo (NaCl 0.9%)

GRAFICO N°1



Elaboración propia 2017

GRAFICO N°1: Muestra la evolución de la inflamación por Hora.

Tabla N°5

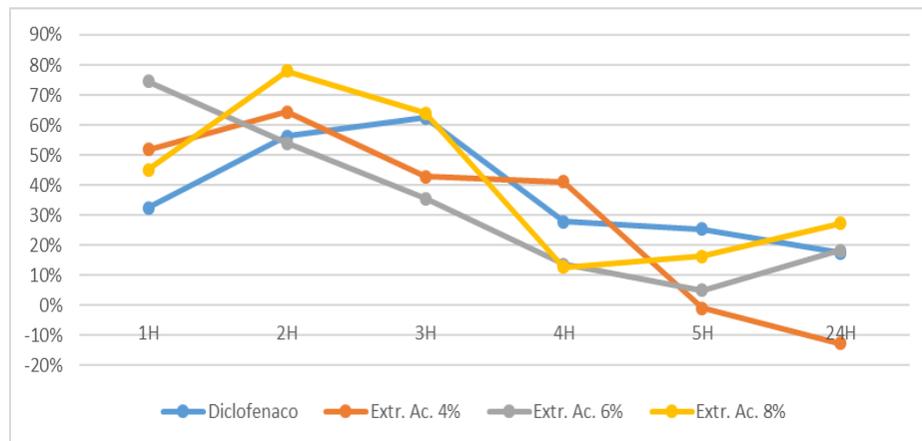
Evolución del porcentaje inhibición del proceso inflamatorio por Hora

	1H	2H	3H	4H	5H	24H
Diclofenaco	32%	56%	62%	28%	25%	17%
Extr. Ac. 4%	52%	64%	43%	41%	-1%	-13%
Extr. Ac. 6%	75%	54%	36%	14%	5%	18%
Extr. Ac. 8%	45%	78%	64%	13%	16%	27%

Elaboración propia 2017.

En la tabla N°5 se observa la inhibición de la inflamación en las 3 primeras horas para el extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) en concentración del 8% fue de 45, 78 y 64%, en concentración del 4% fue de 52, 64 y 43% y en concentración del 6% fue de 75, 54 y 36%. Siendo la más baja de todas a la tercera hora comparando al diclofenaco (32, 56 y 62%).

GRAFICO N°2



Elaboración propia 2017.

GRAFICO N°2: Muestra la evolución del porcentaje inhibición del proceso inflamatorio por Hora

5.2 Discusión de los resultados

En nuestros resultados obtenidos muestran la presencia de alcaloides y flavonoides presentando reacción positiva con su respectivo reactivo, atribuyéndole a los flavonoides la propiedad antiinflamatoria, lo cual esta corroborado por los estudios realizados por **Guerrero VT, Paredes S.J** donde se encontraron metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, leucoantocianinas, taninos, antocianinas, algo dudoso esteroides y/o

triterpenos y negativo en cardiotónicos, saponinas y quinonas. A su vez en ambas investigaciones no hay evidencia de saponinas.

En el estudio realizado **Yong YK, Zakaria ZA, Kadir AA, Somchit MN, Ee G, Ahmad Z**. Se trabajó con dosis de 50 y 150mg/kg de extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* demostrando que ambas dosis tienen efecto antiinflamatorio. De la misma manera en la investigación de **Cienfuegos E, Cueva L**. Se usó tres ecotipos de *Bixa Orellana* a dosis de 100 y 200mg/kg concluyendo que el ecotipo 1 a dosis de 100mg/kg presentó mayor efecto antiinflamatorio. Lo contrario ocurrió con la investigación realizada por **Cáceres A, Saravia A, Jáuregui E, Aguirre I**. Tiene como conclusión que el extracto acuoso a concentraciones de 7.5% y 10% de hojas *Bixa orellana* no tiene efecto antiinflamatorio, con la investigación que realizó demuestro que a concentraciones 4, 6 y 8% de extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* sí muestra un efecto antiinflamatorio comparado con el diclofenaco.

La actividad antiinflamatoria del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana L.* al 4% (400mg/kg), 6 % (600mg/kg) y 8 % (800mg/kg) se evaluó con la técnica del edema plantar inducida por carragenina, en otras investigaciones realizadas como el de **Silva HD, Ríos FI**. A concentraciones por debajo a lo ya realizado (651 mg/kg, 488,3 mg/kg, 244,1 mg/kg, 122 mg/kg, 61,02 mg/kg, 30,5 mg/kg y 15,2 mg/kg) se utilizó la técnica del edema plantar inducido por una sustancia irritante como el formol, en ambos estudios se observó inflamación por diferentes sustancias y al aplicar los extractos el porcentaje de inhibición disminuyó, cabe resaltar que en la investigación de **Silva HD, Ríos FI** no especifica el control positivo ni el tiempo que se le midió la inflamación, por lo que también se

quiso demostrar las concentraciones adecuadas y el tiempo en que se trabajó.

El efecto antiinflamatorio se comparó con diclofenaco 25mg/kg (0.25%) un fármaco que tiene actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria, disminuye las concentraciones intracelulares de Acido araquidónico libre de leucocitos. El extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* al 4% presenta efecto antiinflamatorio al cabo de la primera, segunda y tercera hora de tratamiento, al 6% presenta efecto anti inflamatorio al cabo de la primera y segunda hora de tratamiento, al 8% presenta efecto anti inflamatorio al cabo de la primera, segunda y tercera hora de tratamiento, todos son comparables al diclofenaco.

CONCLUSIONES

- Se determinó que los tres extractos acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) al 4%, 6% y 8% presentan actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.
- El extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) al 4% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1 y 2 horas dando un 52 y 64% respectivamente superando al diclofenaco (32 y 56%)
- Se observó que el extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) al 6% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1 hora dando un 75% superando al diclofenaco (32%)
- También se pudo observar que el extracto acuoso liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (Achiote) al 8% presenta una inhibición de la inflamación al cabo de 1, 2 y 3 horas dando un 45, 78 y 64% respectivamente superando al diclofenaco (32, 56 y 62 %).

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios a las otras partes de la planta como raíz, flor, tallo, semillas de *Bixa orellana* para mayor aprovechamiento de este recurso natural.
- Realizar estudios más detallados para separar cada uno de sus fitoconstituyentes ya encontrados en el presente estudio.
- Realizar estudios de las hojas de *Bixa Orellana* de diferentes lugares de nuestra flora peruana.
- Diseñar una formulación farmacéutica para que sea utilizada como terapia alternativa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. “En el Perú viven más de tres millones de adultos mayores”. Nota de prensa. Instituto Nacional de Estadística e Informática INEI Perú 2015.
2. Ángeles PA. (2012) Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroideos. Unidad de Digestivo de Agencia Sanitaria Costa del Sol- España.
3. Yong YK, Zakaria ZA, Kadir AA, Somchit MN, Ee Cheng Lian G, Ahmad Z. Componentes químicos y actividad antihistamínica del extracto de hoja de *Bixa Orellana*. Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Putra Malasia (2013).
4. Pinedo P, Arroyo A, Herrera C, Cisneros H. “Efecto antiinflamatorio y antioxidante del aceite de *Linum usitatissimum* L. "linaza". Revista conocimiento para el desarrollo de la universidad San Pedro. Vol. 7, Núm. 1 (2016).
5. Silva HD, Ríos FI. “*Bixa Orellana* L. Un antiinflamatorio milenario” en el Instituto Peruano de Seguridad Social (Iquitos, Perú) (1996)
6. Cienfuegos E, Cueva L, “Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos acuosos liofilizados de las hojas de tres ecotipos de *Bixa orellana* L. (achiote), en ratas albinas *Rattus norvegicus*”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Perú: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2009.

7. Guerrero VT, Paredes S.J. Tamizaje fotoquímico de hojas y semillas de (*Bixa Orellana L.*). Artículo de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.
8. Arce PJ. El Achiote *Bixa orellana L.*, cultivo promisorio para el tópico.
9. Mendocilla, Villar LM. Capítulo vii. Monografías de plantas medicinales.
10. Mostacero, I.J. Mejía, C.F. 1993. Taxonomía de las fanerógamas peruanas. Concytec. Trujillo – Perú.
11. Arriaza MA. Caracterización agro morfológica de 15 cultivares de achiote (*Bixa Orellana L.*) en el centro de agricultura tropical "Bulbuxya", San Miguel Panan, Suchitepequez, Guatemala. [Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía; 1990.
12. Incháustegui GR. Instituto de medicina tradicional de Essalud. Estudio Pre-Clínico de la. *Bixa orellana L.* (BIXACEAE). Estudio Etnobotánica. Estudio Botánico.
13. Ruiz YK. Tecnología de procesos Agroindustriales, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (2012).
14. Sepúlveda RC, Ciro GG, Zapata MJ. Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana L.*

(achiote). Revista cubana de Plantas Medicinales 2016; 21(2):133-144.

15. Betancourt BJ, Gorriti A, Córdova A, Ríos F, Ríos D, Flores G, Guzmán M, López D, Cruz A. Actividad analgésica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Bixa orellana L.* en ratones albinos. Centro de investigación de la Facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (2006).
16. Sanchez AV. “Obtención de un extracto acuoso con propiedad hipoglucemiante a partir de las semillas del achiote (*Bixa orellana linn*) para el tratamiento de la diabetes, machala 2014”. [Tesis para optar el título de Bioquímica Farmacéutica]. Ecuador: Universidad Técnica de Machala, Unidad académica de Ciencias Químicas y de la Salud, Carrera de bioquímica y farmacia; 2015.
17. Medina FD. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de *Bixa orellana l.* (achiote) sobre cepas de streptococcus mutans (atcc 25175) y streptococcus sanguinis (atcc 10556). [Tesis para optar el título de Cirujano dentista]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de odontología; 2015.
18. Espíndola MR. “Efecto antifúngico in vitro del extracto etanolito de las hojas de *Bixa orellana l.* “achiote” sobre *Cándida albicans* atcc 10231. [Tesis para optar el título de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad de

Medicina Humana, Escuela profesional de Medicina Humana; 2015.

19. García BP. IX Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica. Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Esp) Vol. 102, N^o. 1, pp 91-159 (2008).
20. Villar D. Farmacología de la investigación y analgésica (2015).
21. Vega G. Inmunología Para El Médico General: Inflamación. Rev Fac Med UNAM Vol. 51 No. 5 septiembre-octubre, 2008.
22. García A, López J, Sánchez M. Respuesta Inflamatoria Sistémica: Fisiopatología Y Mediadores. Med Intensiva NÚM. 8. 2000; 24: 353-360.
23. Rang R, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Farmacología. 6ta Ed. 2015
24. Goodman y Gilman. las bases farmacológicas de la terapéutica. 11va Ed. California. McGraw Hill Interamericana. 2010. pp: 629-671.
25. Katzung BG. Farmacología básica y clínica 11va Ed.
26. Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5TA Ed. Barcelona-España. Elsevier Masson. 2008. pp: 391-455.
27. Kumar V, Abbas AS, Aster J. Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional. México. 6 ed: Saunders-Elsevier; 2000. p. 53-120.

28. Cahua CL. Guia de Farmacología General y Estomatología. Universidad Alas Peruanas (2010).
29. Tucker Collins, Inflamación aguda y crónica. Cap 3
30. Díaz MH. “Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de *Argemone mexicana* (“Cardo santo”) “. [Tesis para optar el título profesional de química farmacéutica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela académica profesional de Farmacia y Bioquímica; 2016.
31. Castells S, Hernández M. Farmacología en Enfermería. 3a Ed.
32. Lock O. Investigación fotoquímica, Métodos en el estudio de producto naturales. 2ª ed. Lima: PUCP Fondo Editorial; 1994.p.3,111-126, 211-227.
33. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Subprograma X-1. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. 1995.
34. Cáceres A, Saravia A, Jáuregui E, Aguirre I. “Actividad antiinflamatoria de plantas medicinales de uso popular en Guatemala (i)” en la Universidad San Carlos (Guatemala).

ANEXOS

ANEXO N°1

Título: Efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de *Bixa Orellana* (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria Bachiller: Elizabeth Chavelon Oroya

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>P.E.1: ¿Cuál el efecto de la concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?</p> <p>P.E.2: ¿Cuál el efecto de la concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?</p> <p>P.E.3: ¿Cuál el efecto de la concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal?</p>	<p>Determinar el efecto de la concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E 1: Evaluar el efecto de la concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.</p> <p>O.E 2: Evaluar el efecto de la concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.</p> <p>O.E 3: Evaluar el efecto de la concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) sobre su actividad antiinflamatoria mediante el modelo edema pedal.</p>	<p>El extracto acuoso liofilizado de hojas de achiote (<i>Bixa orellana</i>) a diversas concentraciones modifica su actividad antiinflamatoria</p> <p>Hipótesis Especificas</p> <p>H.E.1: La concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p>H.E.2: La concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p>H.E.3: La concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) modifica su actividad antiinflamatoria.</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Analítico: Se basa en demostrar la relación que existe entre variables y comparación de resultados</p> <p>Longitudinal: La investigación será medida en tres ocasiones y luego analizadas.</p> <p>Ambispectivo: Porque se hizo antes y después de la investigación</p> <p>Nivel de Investigación:</p> <p>Explicativo: Porque existe causa y efecto entre las variables.</p>	<p>Método de Investigación:</p> <p>Deductivo Porque el estudio va de lo general a lo específico</p> <p>Diseño de investigación:</p> <p>Experimental: Porque se manipulara la variable.</p>	<p>Variable Independiente (X) Concentración del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote).</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Concentración al 4% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote). - Concentración al 6% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote). - Concentración al 8% del extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote). <p>Variable Dependiente (Y) Actividad antiinflamatoria</p> <p>Indicadores: Volumen del edema plantar.</p>	<p>Población :</p> <p>Animales: 30 ratones hembras de la especie <i>Mus mûsculus</i> cepa Balb/c</p> <p>Planta: Hojas de <i>Bixa orellana</i> (Achiote) procedente de la ciudad de Iquitos.</p> <p>Muestra:</p> <p>30 ratones hembras de la cepa Balb/c de 1 mes ½ de edad, peso 25g</p> <p>Extracto acuoso liofilizado de hojas <i>Bixa orellana</i> (Achiote).</p> <p style="text-align: center;">85</p>

ANEXO N°2
CERTIFICACION BOTANICA



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° 215-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 **Elizabeth Raquel CHAVELÓN OROYA**, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad ALAS PERUANAS; ha sido estudiada y clasificada como: ***Bixa orellana* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA,

SUBCLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: VIOLALES

FAMILIA: BIXACEAE

GENERO: ***Bixa***

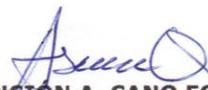
ESPECIE: ***Bixa orellana* L.**

Nombre vulgar: "achiote"

Determinado por: Blgo. Mario Benavente Palacios

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

Lima, 02 de octubre de 2017


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



ACE/ddb

ANEXO N°3
CERTIFICACION SANITARIO



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 257-2017

Producto : Ratón albino	Lote N° : M-39-2017
Especie : <i>Mus musculus</i>	Cantidad : 40
Cepa : Balb/c/CNPB	Edad : 1 mês ½
Peso : Mayor a 25 g.	Sexo : hembras
Boleta de : 035051	Destino : Chavelon Oroya, Elizabeth R.
Venta. :	
Chorrillos : 31 de octubre del 2017	

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .

*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 17 de noviembre del 2017

(Fecha de emisión del certificado)

.....
M.V. Arturo Rosales Fernández.
C.M.V.P. 1586

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

ANEXO N°4
Ensayo de liofilización



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROTOCOLO DE ANÁLISIS

SOLICITADO POR : ELIZABETH RAQUEL CHAVELON OROYA
DIRECCIÓN : Ramón Castillas Mz I Lote 24, Callao.
MUESTRA : EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE ACHIOTE
CANTIDAD : 01 frasco de plástico x 2L
FECHA DE RECEPCION : 03 Noviembre del 2017

PRUEBA	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
LIOFILIZACIÓN	2 litros	9.6 gr

Lima, 27 de Noviembre del 2017



Fernando Riesco Vásquez
Laboratorio de Equipamiento Especializado

ANEXO N°5

Certificado de calibración del pletismometro

PROTON

L. TREMOLEDA

CALIBRADO DE INSTRUMENTOS DE QUIMICA
C/. Pallars, 85 E-08018 BARCELONA Tel. 93 309 23 69 – Fax 93 300 36 69
E-mail: proton@scfes.es

Certificado n° 13446

REGISTRO DE CONTROL METROLOGICO N° 02-V.06, N° 02-C-37 Y N° 02-I.018

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Inmensor n° 1134 Calibrado a 20°C

Volumen nominal 1 ml

Unidad: Agua pura a 20°C

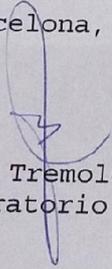
RESULTADO DE LA COMPROBACION

Volumen nominal	El inmensor marca	Incertidumbre
1 ml	0,998 ml	0,001 ml

Contraste efectuado en el laboratorio de PROTON, bajo el método descrito con el n° PR-701, homologado por el L.G.A.I. (expediente n° 94585), utilizando la balanza analítica n° 8858063 con resolución 0.0001g, juego de pesas homologado con certificado E-2, y termómetro con certificado oficial n° 11606. Temperatura interior del laboratorio: 21,2°C.

La incertidumbre asociada a la calibración se ha calculado valorando las contribuciones de la balanza y las pesas utilizadas, del termómetro en origen y en las lecturas, la expresada en el control analítico del agua pura, las acumuladas en la fabricación y posterior control del inmensor, y las derivadas del error de paralaje y tensión superficial en el ajuste, con un nivel de confianza K=2.

Barcelona, 26.10.2012


Luis Tremoleda
Laboratorio de calibrado

ANEXO N°6

Recolección de las hojas de *Bixa orellana* (Achiote)



Foto 1. Árbol de *Bixa orellana* (Achiote)



Foto 2. Hojas de *Bixa orellana* (Achiote)

ANEXO N°7

Preparación de los extractos de *Bixa orellana* (Achiote)



Foto 3. Lavado.



Foto 4 Secado



foto 5. Molido



Foto 6. Pesado de la molienda.

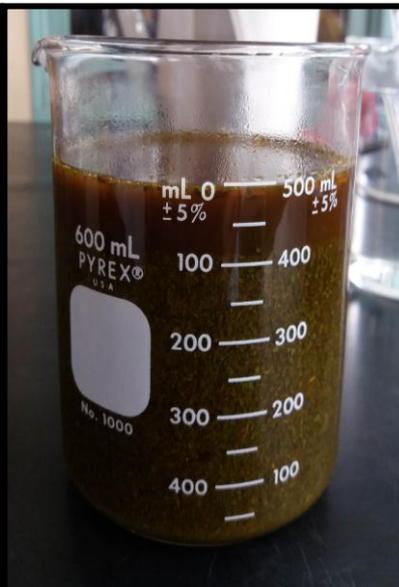


Foto 7. Extracto acuoso.



Foto 8. Liofilizado del extracto acuoso

ANEXO N°8

Marcha fotoquímica del extracto acuoso liofilizado de *Bixa orellana* (Achiote)



Foto 9. Identificación de alcaloides. De izquierda a derecha.

Identificación con reactivo de dragendorff, muy evidente (+++), Con reactivo de mayer, evidente (++) e Identificación con reactivo Wagner, poco evidente (+)



Foto 10. Identificación de flavonoides. De izquierda a derecha. Identificación con reactivo de shinoda, evidente (++)

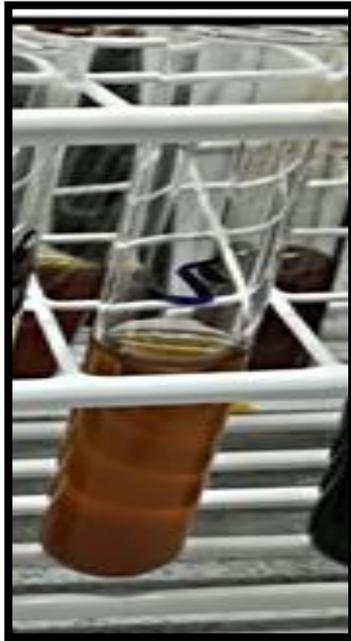


Foto 11. Identificación de saponinas. De izquierda a derecha. Identificación con reacción de espuma, negativo (-)



Foto 12. De izquierda a derecha Identificación de taninos. Reacción con cloruro férrico, muy evidente (+++), identificación de azúcares reductores. Reacción de fehling, evidente (++), identificación de fenoles. Reacción con cloruro férrico, muy evidente (+++).

ANEXO N°9

Determinación de la actividad antiinflamatoria



Foto 3. Grupos de animales de trabajo



Foto 3. Midiendo el basal de la pata del ratón



Foto 3. Induciendo carragenina en la pata trasera del ratón

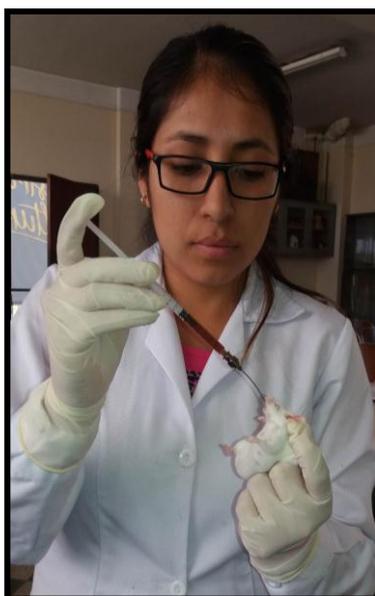


Foto 3. Dándole los extractos al 4%, 6% y al 8%



Foto 3. Midiendo la pata del ratón ya inflamada.

ANEXO N°10

Estadísticas descriptivas porcentaje de inflamación

% de inflamación:	Tratamiento	Media	Desviación típica (s)	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	% de Inhibición
				Límite inferior	Límite superior			
1H	Control negativo	52.00	16.75	34.42	69.58	34.62	75.00	0%
	Diclofenaco	35.17	23.76	10.23	60.11	10.34	71.43	32%
	Extr. Ac. 4%	25.07	23.77	0.12	50.02	0.00	55.56	52%
	Extr. Ac. 6%	13.22	12.53	0.07	26.36	0.00	31.58	75%
	Extr. Ac. 8%	28.57	19.87	7.72	49.43	8.33	50.00	45%
2H	Control negativo	61.39	16.31	44.28	78.51	28.85	72.50	0%
	Diclofenaco	26.86	15.16	10.96	42.77	6.90	41.18	56%
	Extr. Ac. 4%	21.90	17.92	3.08	40.71	4.35	50.00	64%
	Extr. Ac. 6%	28.30	13.20	14.45	42.16	17.86	47.62	54%
	Extr. Ac. 8%	13.59	8.33	4.84	22.33	3.70	22.73	78%
3H	Control negativo	70.79	28.67	40.70	100.88	23.08	94.44	0%
	Diclofenaco	26.63	21.62	3.94	49.31	3.57	58.82	62%
	Extr. Ac. 4%	40.41	28.66	10.33	70.49	0.00	78.57	43%
	Extr. Ac. 6%	45.61	21.32	23.23	67.99	14.29	71.43	36%
	Extr. Ac. 8%	25.57	25.19	-0.87	52.01	0.00	63.64	64%
4H	Control negativo	67.97	30.35	36.11	99.82	15.38	100.00	0%
	Diclofenaco	48.98	30.59	16.88	81.08	7.14	95.00	28%
	Extr. Ac. 4%	39.97	25.70	13.00	66.94	21.74	88.89	41%
	Extr. Ac. 6%	58.64	19.97	37.68	79.59	25.00	77.27	14%
	Extr. Ac. 8%	59.33	28.75	29.16	89.51	29.17	95.65	13%
5H	Control negativo	53.10	23.26	28.69	77.51	26.92	86.96	0%
	Diclofenaco	39.61	22.76	15.73	63.49	17.86	76.19	25%
	Extr. Ac. 4%	53.59	25.16	27.18	79.99	21.74	88.89	-1%
	Extr. Ac. 6%	50.46	19.67	29.82	71.10	19.64	78.95	5%
	Extr. Ac. 8%	44.39	30.21	12.68	76.09	16.67	86.96	16%
24H	Control negativo	46.12	25.52	19.34	72.91	3.85	77.27	0%
	Diclofenaco	38.09	27.51	9.22	66.95	6.90	70.00	17%
	Extr. Ac. 4%	51.97	21.91	28.98	74.96	21.88	72.22	-13%
	Extr. Ac. 6%	37.73	20.79	15.91	59.55	14.29	63.16	18%
	Extr. Ac. 8%	33.57	29.63	2.48	64.67	4.17	73.91	27%

Elaboración Propia 2017.

ANEXO N°11

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico			
	de Levene	df1	df2	Sig.
%INFL 1H	1.327	4	25	.287
%INFL 2H	.851	4	25	.506
%INFL 3H	.367	4	25	.830
%INFL 4H	.310	4	25	.868
%INFL 5H	.652	4	25	.631
%INFL 24H	.296	4	25	.878

Ho: Las seis varianzas son iguales

H1: Al menos una varianza es diferente

ANEXO N°12

Prueba de Análisis de Varianza (ANOVA)

% de inflamación		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
%INFL 1H	Entre grupos	4892.145	4	1223.036	3.116	.033
	Dentro de grupos	9811.674	25	392.467		
	Total	14703.818	29			
%INFL 2H	Entre grupos	7995.418	4	1998.854	9.422	.000
	Dentro de grupos	5303.598	25	212.144		
	Total	13299.016	29			
%INFL 3H	Entre grupos	8102.840	4	2025.710	3.165	.031
	Dentro de grupos	16002.205	25	640.088		
	Total	24105.045	29			
%INFL 4H	Entre grupos	2773.811	4	693.453	.926	.464
	Dentro de grupos	18715.903	25	748.636		
	Total	21489.714	29			
%INFL 5H	Entre grupos	878.434	4	219.608	.367	.830
	Dentro de grupos	14958.117	25	598.325		
	Total	15836.551	29			
%INFL 24H	Entre grupos	1318.412	4	329.603	.515	.725
	Dentro de grupos	15990.910	25	639.636		
	Total	17309.322	29			

Elaboración propia 2017

Donde:

Ho: Los seis promedios de inflamación son iguales.

H1: Al menos un promedio de inflamación es diferente.

ANEXO N°13

Comparaciones múltiples DMS

Variable dependiente % de inflamación:	I	J	Diferencia de medias (I-J)	p valor	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
%INFL 1H	Control negativo	Extr. Ac. 4%	26.92*	0.027	3.37	50.48
		Extr. Ac. 6%	38.78*	0.002	15.22	62.34
		Extr. Ac. 8%	23.43	0.049	-0.13	46.98
	Diclofenaco	Extr. Ac. 4%	10.10	0.386	-13.46	33.65
		Extr. Ac. 6%	21.95	0.066	-1.61	45.51
		Extr. Ac. 8%	6.60	0.569	-16.96	30.15
%INFL 2H	Control negativo	Extr. Ac. 4%	39.49*	0.000	22.18	56.82
		Extr. Ac. 6%	33.09*	0.001	15.77	50.41
		Extr. Ac. 8%	47.80*	0.000	30.49	65.13
	Diclofenaco	Extr. Ac. 4%	4.97	0.560	-12.35	22.29
		Extr. Ac. 6%	-1.44	0.865	-18.76	15.88
		Extr. Ac. 8%	13.28	0.127	-4.04	30.60
%INFL 3H	Control negativo	Extr. Ac. 4%	30.37*	0.048	0.29	60.46
		Extr. Ac. 6%	25.18	0.097	-4.91	55.26
		Extr. Ac. 8%	45.21*	0.005	15.13	75.30
	Diclofenaco	Extr. Ac. 4%	-13.79	0.354	-43.87	16.30
		Extr. Ac. 6%	-18.99	0.206	-49.07	11.10
		Extr. Ac. 8%	1.06	0.943	-29.03	31.14

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

Donde:

Ho: Media del porcentaje de inflamación I es igual a la media del porcentaje de inflamación J.

H1: Las medias son diferentes

ANEXO N°14
Ficha de datos experimentales

GRUPOS	PESO g	BASAL ml	INFL 1H	INFL 2H	INFL 3H	INFL 4H	INFL 5H	INFL 24H	%INFL 1H	%INFL 2H	%INFL 3H	%INFL 4H	%INFL 5H	%INFL 24H
GRUPO 1	32	0.32	0.2	0.19	0.32	0.4	0.42	0.39	-37.5	-40.63	0	25	31.25	21.88
	39	0.28	0.42	0.3	0.5	0.35	0.43	0.46	50	7.14	78.57	25	53.57	64.29
	32	0.18	0.28	0.27	0.28	0.34	0.34	0.31	55.56	50.00	55.6	88.89	88.89	72.22
	31	0.21	0.26	0.24	0.27	0.31	0.32	0.34	23.81	14.29	28.6	47.62	52.38	61.90
	33	0.43	0.22	0.24	0.23	0.28	0.28	0.38	-48.84	-44.19	-46.5	-34.88	-34.88	-11.63
	32	0.19	0.23	0.26	0.3	0.25	0.53	0.24	21.05	36.84	57.9	31.58	178.95	26.32
GRUPO 2	35	0.21	0.21	0.31	0.29	0.37	0.35	0.31	0.00	47.62	38.1	76.19	66.67	47.62
	37	0.28	0.31	0.33	0.32	0.35	0.44	0.32	10.71	17.86	14.3	25.00	57.14	14.29
	38	0.18	0.26	0.35	0.37	0.57	0.55	0.34	44.44	94.44	105.6	216.67	205.56	88.89
	32	0.19	0.25	0.27	0.31	0.3	0.34	0.31	31.58	42.11	63.2	57.89	78.95	63.16
	33	0.21	0.24	0.25	0.36	0.31	0.31	0.33	14.29	19.05	71.4	47.62	47.62	57.14
	34	0.22	0.27	0.26	0.34	0.49	0.47	0.27	22.73	18.18	54.5	122.73	113.64	22.73
GRUPO 3	39	0.24	0.41	0.26	0.28	0.31	0.38	0.25	70.83	8.33	16.7	29.17	58.33	4.17
	39	0.23	0.34	0.28	0.33	0.45	0.43	0.4	47.83	21.74	43.5	95.65	86.96	73.91
	33	0.24	0.34	0.25	0.24	0.39	0.32	0.32	41.67	4.17	0.0	62.50	33.33	33.33
	32	0.24	0.27	0.21	0.24	0.32	0.29	0.25	12.50	-12.50	0.0	33.33	20.83	4.17
	36	0.37	0.3	0.24	0.35	0.39	0.49	0.33	-18.92	-35.14	-5.4	5.41	32.43	-10.81
	29	0.22	0.33	0.27	0.36	0.42	0.49	0.36	50.00	22.73	63.6	90.91	122.73	63.64

GRUPO 4

33	0.2	0.34	0.26	0.35	0.42	0.34	0.33	70.00	30.00	75.0	110.00	70.00	65.00
31	0.26	0.35	0.23	0.32	0.3	0.33	0.27	34.62	-11.54	23.1	15.38	26.92	3.85
37	0.22	0.33	0.25	0.42	0.44	0.33	0.39	50.00	13.64	90.9	100.00	50.00	77.27
35	0.23	0.33	0.25	0.44	0.39	0.43	0.31	43.48	8.70	91.3	69.57	86.96	34.78
33	0.24	0.42	0.24	0.36	0.37	0.31	0.35	75.00	0.00	50.0	54.17	29.17	45.83
29	0.18	0.25	0.21	0.37	0.32	0.28	0.27	38.89	16.67	105.6	77.78	55.56	50.00

GRUPO 5

39	0.28	0.28	0.39	0.29	0.3	0.33	0.3	0.00	39.29	3.6	7.14	17.86	7.14
38	0.28	0.48	0.31	0.29	0.37	0.35	0.37	71.43	10.71	3.6	32.14	25.00	32.14
36	0.48	0.32	0.31	0.35	0.41	0.35	0.31	-33.33	-35.42	-27.1	-14.58	-27.08	-35.42
33	0.6	0.21	0.25	0.27	0.62	0.29	0.34	-65.00	-58.33	-55.0	3.33	-51.67	-43.33
33	0.17	0.21	0.24	0.27	0.29	0.26	0.28	23.53	41.18	58.8	70.59	52.94	64.71
39	0.21	0.33	0.29	0.29	0.31	0.37	0.31	57.14	38.10	38.1	47.62	76.19	47.62

*INFL: Inflamación de la pata del ratón

GRUPO	Tratamiento
1	Extracto acuoso liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 4% (400mg/Kg) + carragenina 1%
2	Extracto acuoso liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 6% (600mg/Kg) + carragenina 1%
3	Extracto acuoso liofilizado de <i>Bixa orellana</i> 8% (800mg/Kg) + carragenina 1%
4	Control negativo Suero Fisiológico + carragenina 1%
5	Control positivo Diclofenaco 0.25% (25mg/kg) + carragenina 1%

