

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS
PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN”

Presentado por la Bachiller:
LA TORRE VILLALBA, LISSETH PAOLA
Para optar el Título Profesional de Químico
Farmacéutico

Asesora:
Mgter. MARÍA ELENA GUILLÉN NÚÑEZ

AREQUIPA - PERÚ
2014

ÍNDICE

RESUMEN	IV
ABSTRACT	VI
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
HIPÓTESIS	3
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO	
1. <i>Zingiber officinale Roscoe</i> (jengibre)	4
1.1. Descripción botánica	4
1.2. Clasificación taxonómica	6
1.3. Nombre científico	6
1.4. Nombre común	6
1.5. Composición química	7
1.6. Parte utilizada de <i>Zingiber officinale Roscoe</i> (jengibre)	8
1.7. Efectos farmacológicos y usos	8
1.8. Dosis	8
1.9. Farmacocinética	9
1.10. Toxicología	9
2. Extracción de principios activos vegetales	10
2.1. Métodos de extracción	11
2.2. Concentración de líquidos extractivos	13
2.3. Elección del disolvente de extracción	13
2.4. Identificación por cromatografía en capa fina	14
3. Formas farmacéuticas líquidas orales	15
3.1. Formulación	15

3.2.	Soluciones	16
3.3.	Suspensiones	17
3.4.	Emulsiones	17
4.	Inflamación	18
4.1.	Definición	18
4.2.	Causas	18
4.3.	Alteraciones principales de la inflamación	19
4.4.	Clases de inflamación	20
4.5.	Mediadores químicos de la inflamación	24
4.6.	Fármacos antiinflamatorios	31
4.7.	Compuestos con actividad antiinflamatoria del jengibre	34
5.	Métodos de valoración de la actividad antiinflamatoria	35
5.1.	Edema sub-plantar inducido por carragenina	35
5.2.	Edema con aceite de croton en la oreja del ratón	35

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS36

1.	Duración del estudio	36
2.	Lugar de investigación	36
3.	Materiales	37
3.1.	Unidades de estudio	37
3.2.	Material de laboratorio, equipos y reactivos	38
4.	Métodos	40
4.1.	Recolección y acondicionamiento del material vegetal	40
4.2.	Obtención de los extractos	41
4.3.	Determinación del rendimiento de extracción	43
4.4.	Etapas preliminar - prueba piloto	45
4.5.	Análisis cromatográfico	48

4.6. Etapa experimental - evaluación del efecto antiinflamatorio	52
5. Diseño estadístico	59
5.1. Estadística descriptiva	59
5.2. Estadística inferencial	60
CAPÍTULO III	
RESULTADOS Y DISCUSIONES	
1. Obtención de los extractos de <i>Zingiber officinale Roscoe</i> (jengibre)	62
2. Porcentaje de rendimiento de los extractos	64
3. Etapa preliminar - prueba piloto	65
3.1. Determinación del porcentaje de inflamación	66
3.2. Análisis estadístico inferencial de ANOVA y Tukey	68
4. Cromatografía en capa fina	71
4.1. Corrida general	73
4.2. Determinación de terpenos	74
4.3. Determinación de flavonoides	75
4.4. Determinación de taninos	76
5. Etapa experimental - evaluación del efecto antiinflamatorio	77
5.1. Determinación del porcentaje de inflamación	77
5.2. Análisis estadístico inferencial de ANOVA y Tukey	79
CONCLUSIONES	98
RECOMENDACIONES	100
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
ANEXOS	110

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María, utilizando como animales de experimentación ratas de la raza Holtzman, especie *Rattus rattus*; con el objetivo principal de evaluar el efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), para lo cual se obtuvo extractos con tres solventes de diferente polaridad, se determinó el extracto con mejor efecto antiinflamatorio mediante una prueba piloto y se identificó los principales metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina.

Se obtuvo rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en el Supermercado Metro e identificó en el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín, posteriormente se seleccionó lavando, pelando y cortando los rizomas en finas láminas, se desecó a 45°C durante 48 horas en la estufa y se molió para la extracción.

Mediante el equipo Soxhlet se obtuvieron extractos con solventes de diferente polaridad, utilizando éter de petróleo como solvente apolar, cloroformo como medianamente polar y etanol como polar; se determinó el porcentaje de rendimiento de los extractos blandos, siendo el extracto obtenido con etanol de mayor rendimiento con 11.90%, seguido del cloroformo con 6.85% y finalmente el éter de petróleo con 4.60%.

Para la prueba piloto se preparó tres suspensiones, cada una contenía un extracto blando diferente (éter de petróleo, cloroformo y etanol), las cuales se administraron por vía oral 3 horas después de administrar el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%), a dosis equivalentes a 35,71 mg de rizoma seco por kilogramo de peso. Se aplicó el método del edema sub-plantar inducido por carragenina en animales de experimentación y se midió el volumen de inflamación con el equipo Pletismómetro Digital. Cuatro horas después de administrar el agente flogógeno, se determinó mediante pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey al 95.0% de confianza, que la suspensión extracto éter de petróleo presentaba mejor efecto antiinflamatorio en comparación con el grupo control, suspensión extracto clorofórmico y suspensión extracto etanólico.

Utilizando el extracto éter de petróleo se realizó el análisis cromatográfico y se evidenció la presencia de gingerol, flavonoides y terpenos en la muestra.

Durante la etapa experimental se evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto éter de petróleo del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), utilizando suspensiones, las cuales se administraron por vía oral a dosis de 0.66, 1.64 y 2.63 mg de extracto blando por kilogramo de peso, comparándolas con un grupo control (vehículo y excipientes de los extractos) y un grupo ácido acetilsalicílico (7.15 mg/kg). Para valorar la actividad antiinflamatoria se aplicó el mismo método de la prueba piloto, así como las mismas pruebas estadísticas desde una hora después de administrar el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%) hasta siete horas después. Evidenciándose que transcurridas cuatro horas no existe diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza en el porcentaje de inflamación de los grupos ácido acetilsalicílico y suspensión de extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg.

Se concluye que el extracto blando obtenido con éter de petróleo del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) a dosis de 2.63 mg/kg posee actividad antiinflamatoria equivalente a 7.15 mg/kg de ácido acetilsalicílico.

ABSTRACT

The present research was performed in the laboratories of the Catholic University of Santa María, using as experimental animals rats of the Holtzman strain, species *Rattus rattus*; with the primary objective to assess the anti-inflammatory effect of *Zingiber officinale Roscoe* (ginger), for which extracts were obtained with three different polarity solvents, the extract with better anti-inflammatory effect was determined by a pilot and the main secondary metabolites were identified by thin layer chromatography.

Rhizomes of *Zingiber officinale Roscoe* (ginger) was obtained at Metro Supermarket and identified at Herbarium Arequipense (HUSA) of the San Agustín University, subsequently was selected washing, peeling and cutting rhizomes into thin sheets, dried at 45°C for 48 hours in an oven and ground for removal.

Through Soxhlet equipment, extracts using solvents of different polarity were obtained, using petroleum ether as apolar solvent, chloroform as moderately polar solvent and ethanol as polar solvent; the yield percentage of the soft extracts was determined, showing that the ethanol extract have better performance with 11.90%, followed by chloroform with 6.85% and finally petroleum ether with 4.60%.

For the pilot, three pharmaceutical suspension are prepared at doses equivalent to 35.71 mg of dry rhizome per kilogram, each one containing a different soft extract (petroleum ether, chloroform and ethanol), which were administered orally 3 hours after the administration of the phlogogen agent (carrageenan solution 1%). We applied the subplantar edema method induced by carrageenan in experimental animals and the inflammation volume is measured with the Plethysmometer Digital equipment. Four hours after administration of the phlogogen agent, was determined by statistical tests of ANOVA and Tukey Test at 95.0% confidence, that the suspension of petroleum ether extract had better antiinflammatory effect compared to the control group, suspension of chloroform extract and suspension of ethanol extract

Using petroleum ether extract chromatographic analysis was performed and the presence of gingerol, flavonoids and terpenes in the sample was evident.

In the experimental phase the anti-inflammatory effect of petroleum ether extract of *Zingiber officinale Roscoe* (ginger) rhizomes, was evaluated using suspensions, which were administered orally at doses of 0.66, 1.64 and 2.63 mg of soft extract per kg body weight, compared with a control group (vehicle extracts) and aspirin group (7.15 mg / kg). To assess the anti-inflammatory activity were applied the same method of the pilot, and the same statistical tests, since one hour after administering the phlogogen agent (carrageenan solution 1%) until seven hours later. Within four hours and conclude that there is no difference statistically significant at 95.0% confidence in the percentage of inflammation aspirin groups and suspension of petroleum ether extract 2.63 mg / kg.

We conclude that the soft petroleum ether extract of the rhizome of *Zingiber officinale Roscoe* (ginger) at doses of 2.63 mg/kg has anti-inflammatory activity equivalent to 7.15 mg/kg of acetylsalicylic acid.

INTRODUCCIÓN

El Instituto Nacional de Salud estima que la flora del Perú por sus múltiples pisos ecológicos y ecosistemas permite contar con más del 8% del total de las plantas existentes sobre la Tierra; un aspecto importante es el uso medicinal, alimenticio y ritual que hace la población peruana de muchas estas especies vegetales. (1)

Zingiber officinale Roscoe, conocido comúnmente en el Perú como el jengibre o kion, es originario de Asia y cultivado en la amazonia de nuestro país; desde hace décadas se ha utilizado como un insumo culinario y medicinal, teniendo diversos usos terapéuticos y entre ellos el efecto antiinflamatorio.

En la actualidad la inflamación es uno de los trastornos más comunes que se presenta en el hombre y es una señal de alerta al organismo, sin embargo la prolongación del proceso inflamatorio puede provocar daño a células y tejidos.

Por los diversos efectos farmacológicos, en especial el efecto antiinflamatorio y el auge que viene teniendo el uso de esta raíz en el mundo, se investigó la actividad antiinflamatoria del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en animales de experimentación, administrando por vía oral los extractos blandos, en forma de suspensiones. Al ser esta la vía de administración más cómoda, segura y económica. (2)

OBJETIVOS

1. Obtener extractos de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con tres solventes de diferente polaridad.
2. Determinar el extracto de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con mejor efecto antiinflamatorio mediante una prueba piloto.
3. Identificar los principales metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina del extracto con mejor efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre).
4. Evaluar el efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), en relación a las dosis antiinflamatorias tradicionalmente utilizadas.
5. Comparar el efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con el ácido acetilsalicílico.

HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional le atribuye a los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) propiedades curativas en procesos inflamatorios, es probable que el extracto de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) presente efecto antiinflamatorio en animales de experimentación.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

1.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Hierba erecta y perenne que crece hasta 1 metro de altura. (Figura 1.1) (3)

(4) (5)

- Tallos simples. (3) (4) (5)
- Hojas lanceoladas, envainadas y cortopeciolas, de 18-20 centímetros de largo y 1.2-2.5 centímetros de ancho. (3) (4) (5)
- Flores sésiles, amarillas y labios purpúreos; reunidas en una espiga al extremo del tallo. (3) (4) (5)
- Rizoma formado por tubérculos palmeados, carnosos y fibrosos, del que parten vástagos aéreos en posición oblicua. (3) (4) (5)

Su forma de reproducción es por divisiones del rizoma. (3) (4) (5)

FIGURA 1.1

Zingiber officinale Roscoe (JENGIBRE) (6)



1.1.1. HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

El jengibre es nativo de Asia, probablemente del nordeste de India. (3) Es cultivado en regiones tropicales y subtropicales, de clima caliente y húmedo como Nigeria, India, Sri Lanka, África, Jamaica, China, Japón y Australia. (3)

El jengibre proveniente de India y Jamaica son considerados de calidad superior. (3)

1.1.2. DISTRIBUCIÓN EN EL PERÚ

En el Perú se cultiva el jengibre en los valles de Pichanaki, Satipo, San Martín de Pangoa y Nazamari ubicados en la Región Junín. (7)

1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Vegetal - Plantae (8) (9)

División: Magnoliophyta (8) (9)

Clase: Liliopsidae – Monocotiledonea (8) (9)

Orden: Zingiberales (8) (9)

Familia: Zingiberaceae (8) (9)

Género: Zingiber (8) (9)

Especie: *Zingiber officinale Roscoe* (8) (9)

1.3. NOMBRE CIENTÍFICO

Zingiber officinale Roscoe, Zingiber zingiber (L), Amomum zingiber L.
(10) (11)

1.4. NOMBRE COMÚN

- Mangarataia (Portugués). (12) (4)
- Jeung, Sang keong, Keong, Sheng Jiang (Chino). (12) (4)
- Ginger (Inglés). (12) (4)
- Gingembre (Francés). (12) (4)
- Jengibre, gengibre, jenjibre, raíz de jengibre, ajengibre, jengibre dulce (Español). (12) (4)
- Kion (Perú).

1.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

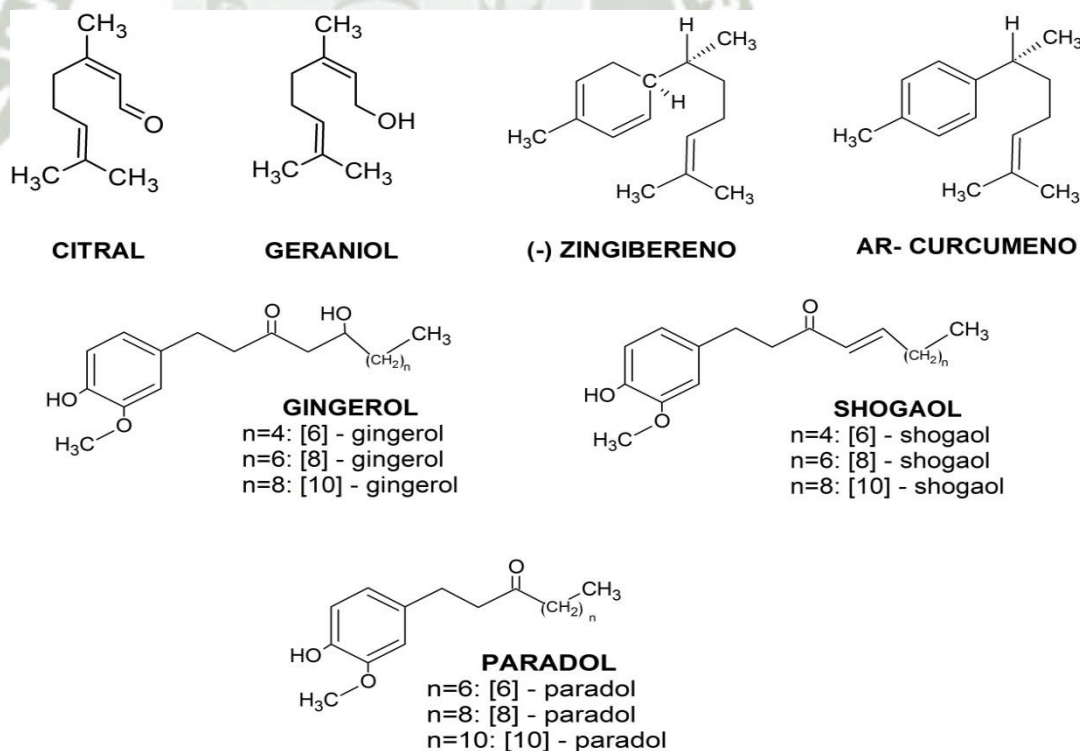
La composición química depende de la variedad, método de cultivación, edad de cosecha y ubicación geográfica del jengibre, conteniendo principalmente: (13) (14) (15)

- **Aceites esenciales:** contiene principalmente monoterpenos (cital, geraniol) y sesquiterpenos (zingibereno, curcumeno). (Figura 1.2) (13) (14) (15)
- **Compuestos pungentes no volátiles:** gingeroles, shogaoles y paradols. (Figura 1.2) (13) (14)

Además contiene pectina, almidón, azúcares, mucílagos, ácidos orgánicos, etc. (15)

FIGURA 1.2

COMPONENTES DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) (15) (12)



FUENTE: Elaboración propia. ChemSketch.

1.6. PARTE UTILIZADA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

La parte utilizada es el rizoma, el cual puede ser fresco o seco. (15)

1.7. EFECTOS FARMACOLÓGICOS Y USOS

- Antiinflamatorio (gingerol, shogaol, paradol y zingerone) (16) (17)
- Gastroprotector. (18) (19)
- Antialérgico. (16) (20)
- Antiemético. (16) (21)
- Anticancerígeno. (16) (22)
- Antioxidante. (16) (23)
- Antiparasitario. (16) (24)
- Antiséptico. (16) (25)
- Hipoglicemiante. (16) (26)
- Hepatoprotector. (16) (27)

1.8. DOSIS

- **Artritis reumatoide:** como raíz seca por vía oral (infusión o cápsulas), 1 gramo dos o tres veces al día para empezar, posteriormente se puede incrementar la dosis hasta 4 gramos diarios. (28)
- **Artritis reumatoide:** dosis recomendada de 500-1000 mg al día, algunos pacientes han tomado cantidades tres o cuatro veces mayor, con un alivio más rápido y completo. (29)

1.9. FARMACOCINÉTICA

Personas voluntarias sanas que no tomaban ninguna medicación, fueron sometidas a un estudio, en el cual se les administró extracto de jengibre por vía oral en dosis de 100 mg hasta 2,0 g; muestras de sangre fueron tomadas desde 15 minutos hasta 72 horas después la administración de una sola dosis. Se obtuvo como resultado que no se detectó 6, 8, 10 gingerol o 6-shogaol de forma libre en sangre, pero si se encontró 6, 8, 10 gingerol y 6-shogaol de forma conjugada (glucorónico o sulfato). El tiempo al cual alcanzaron la máxima concentración en sangre fue de 30 a 80 minutos, para todas las dosis de 6, 8, 10 gingerol y 6-shogaol. Los conjugados de gingerol y shogaol fueron eliminados completamente del plasma en cuatro horas. (30)

1.10. TOXICOLOGÍA

- **Toxicidad aguda:** en ratones, 2.5 g/kg de peso corporal de extracto etanólico seco es bien tolerado después de la administración oral, no existiendo mortalidad o efectos secundarios, excepto diarrea leve en dos de diez ratones. Dosis de 3.0-3.5 g/kg causa del 20-30% de mortalidad después de 72 horas, debido a contracciones involuntarias de los músculos esqueléticos. La LD₅₀ de aceite esencial de jengibre en ratas es de 5g/kg de masa corporal. (31)
- Tullayakorn Plengsuriyakarn, et al. en su investigación “Cytotoxicity, Toxicity, and Anticancer Activity of *Zingiber Officinale Roscoe* Against Cholangiocarcinoma”, al determinar la toxicidad aguda y subaguda, demostraron que el extracto de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) fue bien tolerado cuando se administró por vía oral a dosis de 1000, 3000 y 5000 mg/kg de peso a un total de 60 hamsters. Todos

los animales sobrevivieron durante el periodo de investigación, sin tener algún signo de toxicidad o movimientos anormales. (32)

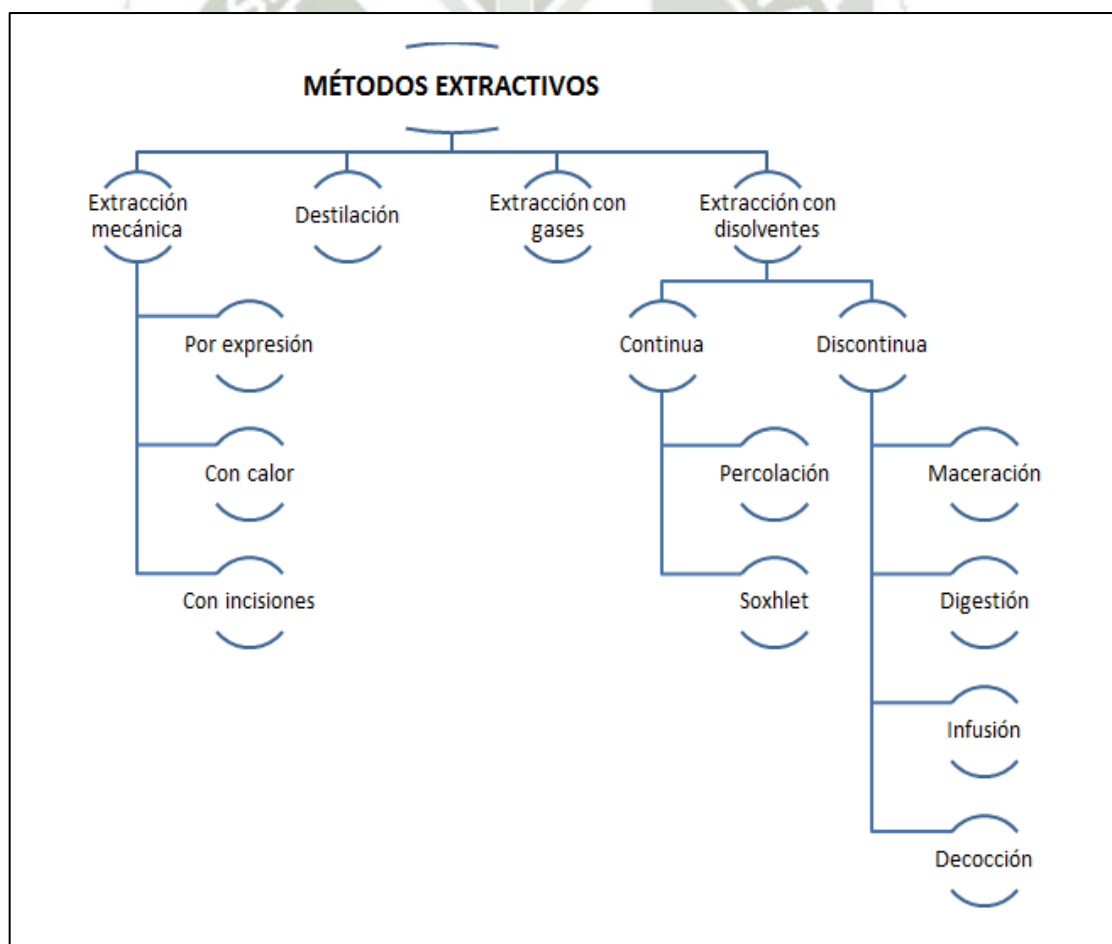
- El extracto de jengibre podría causar: Hipotensión, hipertensión, hipoglicemia y sangrado. (28)

2. EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS VEGETALES

La extracción implica la separación de fracciones medicinalmente activas, de componentes inactivos o inertes presentes en tejidos vegetales. (33)

Hay varios métodos extractivos: (Cuadro 1.1)

CUADRO 1.1
MÉTODOS EXTRACTIVOS (34)



2.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

2.1.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA

Permite obtener principios activos disueltos en fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. Este tipo de extracción se da por expresión, con calor o mediante incisiones. (34)

2.1.2. DESTILACIÓN

Se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, para poder separar componentes volátiles de otros menos volátiles. (34)

La destilación permite obtener esencias de las drogas, además este método utiliza fuente de calor, por lo que solo es aplicable a principios activos termoestables. (34)

2.1.3. EXTRACCIÓN CON GASES

Se trabaja con dispositivos especiales, en los cuales es posible controlar la presión y temperatura superiores a los valores críticos. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono y el butano. (34)

2.1.4. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben pasar de la droga al disolvente de forma que se obtenga un extracto líquido. (34)

Se debe tener en cuenta los siguientes factores: Características de la droga (drogas desecadas, grado de división adecuado), naturaleza del disolvente (polaridad), temperatura (principios activos termolábiles), tiempo de contacto entre la droga y el disolvente, control de difusión celular. (34)

2.1.4.1. EXTRACCIÓN DISCONTINUA O SUMULTÁNEA

La totalidad de la droga conecta con el disolvente y la difusión de principios activos se realizará en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio. (34)

2.1.4.1.1. MACERACIÓN

Consiste en poner en contacto la droga seca y triturada con el disolvente (agua, glicerina, mezclas hidroalcohólicas) a temperatura ambiente durante varias horas o días. (34)

2.1.4.1.2. DIGESTIÓN

Método similar a la maceración pero se trabaja a temperaturas elevadas. (34)

2.1.4.1.3. INFUSIÓN

Se trabaja con un disolvente (agua) a temperaturas próximas a la ebullición, durante uno o dos minutos hasta 30 minutos aproximadamente. (34)

2.1.4.1.4. DECOCCIÓN O COCIMIENTO

Se pone en contacto la droga con el disolvente (agua) y se lleva a temperatura de ebullición durante 15 a 30 minutos. (34)

2.1.4.2. EXTRACCIÓN CONTINUA O PROGRESIVA

2.1.4.2.1. PERCOLACIÓN

Se realiza a temperatura ambiente, donde en un recipiente troncocónico o en forma de columna se coloca la droga

para que entre en contacto permanente con el disolvente, el cual ayudado por la gravedad gotea por la parte superior de la columna, atraviesa la zona donde se encuentra la droga y por la parte inferior se recogen líquidos extractivos. (34)

2.1.4.2.2. SOXHLET

Se basa en un sistema de reflujo que garantiza la provisión del disolvente puro. Para ello se requiere un extractor Soxhlet y una fuente de calor que permita la ebullición del disolvente. El disolvente orgánico se va reciclando durante el proceso, mientras el principio activo se va concentrando en el balón de destilación. (34) (35)

El extractor Soxhlet garantiza un flujo continuo de disolventes a través de la muestra (34) (35)

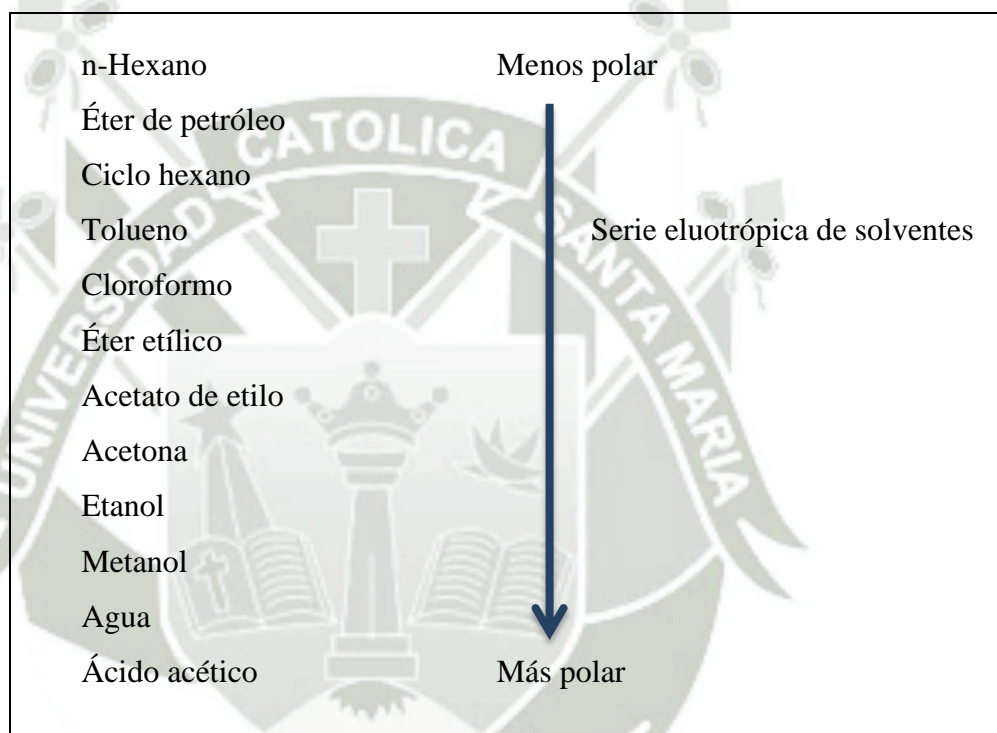
2.2. CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS EXTRACTIVOS

- **Al vacío:** utilizando un rotavapor, se trabaja a temperaturas inferiores a 40°C y en ausencia de oxígeno. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con disolventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas. (34)
- **Liofilización:** consiste en eliminar el disolvente mediante una congelación a temperatura muy baja, seguido de una sublimación del disolvente que pasa directamente del estado sólido a vapor. (34)

2.3. ELECCIÓN DEL DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN

La elección del disolvente de extracción depende de la solubilidad del compuesto a extraer, además de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad de los posibles disolventes a emplear. Para extraer los componentes de un

tejido animal o vegetal, generalmente se parte de material molido y deshidratado, para evitar la posible formación de emulsiones entre el agua contenida en el material y los disolventes orgánicos a utilizar. El tipo de compuestos orgánicos a extraer dependerá fundamentalmente de la polaridad del disolvente elegido. (Cuadro 1.2) (36) (37)

CUADRO 1.2**POLARIDAD DE SOLVENTES ORGANICOS (36) (37)**

n-Hexano	Menos polar
Éter de petróleo	
Ciclo hexano	
Tolueno	
Cloroformo	
Éter etílico	
Acetato de etilo	
Acetona	
Etanol	
Metanol	
Agua	
Ácido acético	Más polar

Serie eluotrópica de solventes

2.4. IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

En este tipo de cromatografía, la fase estacionaria está formada por una fina capa de material adsorbente como gel de sílice, alúmina o celulosa, unida a un soporte formado por una placa de vidrio, plástico o aluminio. La fase móvil está formada por el eluyente (disolventes orgánicos) que se mueve por capilaridad a través de la fase estacionaria. (35)

Para llevar a cabo la técnica, se deposita una gota de la muestra a cromatografiar en el punto indicado en uno de los extremos de la placa de la fase estacionaria. Posteriormente la placa se introduce en una cubeta cromatográfica que contiene el líquido eluyente utilizado como fase móvil. Este eluyente contactará con la placa únicamente por el extremo próximo al lugar donde se ha colocado la muestra y se moverá por capilaridad hacia el otro extremo de la placa, arrastrando y separando los constituyentes de la muestra. (35)

Los componentes de la muestra, una vez separados pueden ser visibles y distinguibles a simple vista en forma de manchas distribuidas a lo largo de la placa; o puede ser necesario hacerlas visible mediante algún método de revelado. (35)

Los siguientes factores causan variaciones en el valor de R_f , no permitiendo que sea un valor absoluto: las variaciones de temperatura del medio ambiente, el grado de pureza de los disolventes utilizados y las variaciones de homogeneidad de las diferentes placas de capa fina. (38)

3. FORMAS FARMACÉUTICAS LÍQUIDAS ORALES

Son soluciones, emulsiones o suspensiones que contienen uno o más principios activos en un vehículo apropiado. Algunos principios activos se pueden utilizar como tales y otros se diluyen en el vehículo o se adicionan como producto sólido (polvos o granulados) para preparación extemporánea. (39)

3.1. FORMULACIÓN

Los componentes de una forma líquida pueden ser muy variados:

- **Vehículo:** suele ser agua o mezclas con sorbitol, glicerina, propilenglicol y etanol. Con menor frecuencia, se emplean disolventes oleosos como aceites vegetales o parafina. En cada caso se debe tener

en cuenta las concentraciones máximas para no superar las dosis diarias máximas recomendadas. La selección del vehículo es crítica en función de la solubilidad del principio activo y su estabilidad. (39)

- **Tensioactivos:** facilita la formulación de suspensiones y emulsiones al reducir la tensión superficial del vehículo e incrementar la solubilidad de algunos principios activos. (39)
- **Viscosantes:** mejora la estabilidad física de las preparaciones. (39)
- **Conservantes antimicrobianos:** para evitar el desarrollo de microorganismos. Se añaden en concentraciones bajas (< 0.5%). (39)
- **Antioxidantes:** para proteger al fármaco y algunos excipientes de posibles oxidaciones, se utiliza sustancias como el galato de propilo, butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol y tocoferoles para fases oleosas, y derivados de azufre y vitamina C para medios acuosos. (39)
- **Correctores de aroma y sabor:** se emplean edulcorantes naturales o sintéticos (sacarosa, fructosa, glucosa, sorbitol, glicerina, sacarina, aspartamo, etc.), saborizantes y aromatizantes permitidos por las autoridades sanitarias. (39)

3.2. SOLUCIONES

Contienen uno o más fármacos disueltos en un líquido, se administran por vía oral y se dosifican por volumen. Pueden presentarse como soluciones límpidas y transparentes, de sabor y olor agradable; o como un producto sólido para disolver extemporáneamente en el vehículo que lo acompañe. (40) (39)

Los componentes básicos de las soluciones orales son: el fármaco y el vehículo, pero además puede contener sustancias auxiliares como

tampones, humectantes, solubilizantes, conservantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes y colorantes. (40)

3.3. SUSPENSIONES

Contienen partículas del fármaco finamente divididas y distribuidas de manera uniforme en un vehículo, en el cual el fármaco es insoluble o presenta un grado de solubilidad mínimo. La mayoría de las suspensiones son preparaciones acuosas con cierta viscosidad, que contienen agentes aromatizantes y edulcorantes. (40) (39)

Las suspensiones orales permiten la administración de fármacos que son inestables en disolución, pero químicamente estables cuando se formula en suspensión. Las suspensiones logran que el sabor desagradable de ciertos fármacos sea superado, al formularlos como partículas no disueltas en suspensión. (40) (39)

Los componentes de las suspensiones orales listas para su administración son el fármaco, el vehículo y las sustancias auxiliares como los agentes viscosizantes, los tensoactivos, los coloides hidrófilos, los disolventes, los electrolitos, los agentes floculantes, los conservantes, los aromatizantes y los colorantes. (40)

3.4. EMULSIONES

Son sistemas dispersos constituidos por dos líquidos no miscibles, uno de ellos uniformemente disperso en el otro, gracias a la acción de un agente emulsificante. (40)

Los componentes básicos de una emulsión son la fase acuosa, la fase oleosa y los emulgentes. La fase acuosa debe estar constituida por agua purificada, disolventes hidromiscibles y las sustancias auxiliares

(viscosizantes, correctores del sabor, conservantes, etc.) que sean hidrosolubles. (40)

4. INFLAMACIÓN

4.1. DEFINICIÓN

La inflamación es el conjunto de respuestas de los tejidos vivos frente a una agresión física, infecciosa o autoinmune, que determina en los sistemas homeostáticos de la sangre y en el tejido conectivo; para luego producirse una serie de cambios encaminados a localizar, aislar y eliminar el agente agresor; para así poder reparar el daño tisular producido por él. (41)

4.2. CAUSAS

Las causas de la inflamación aguda son:

- Agentes físicos (traumatismos, calor, frío, radiación, etc.). (42)
- Sustancias químicas irritantes. (42)
- Infecciones microbianas. (42)
- Reacciones de hipersensibilidad de mecanismo inmunitario (vasculitis inmunomediada, rinitis alérgica). (42)
- Necrosis tisular. (42)

Causas de la inflamación crónica:

- Microorganismos resistentes a la fagocitosis o mecanismos de destrucción intracelular (tuberculosis, lepra). (42)

- Cuerpos extraños, que pueden ser endógenos (hueso, tejido adiposo, cristales de ácido úrico) o exógenos (sílice, materiales de sutura, prótesis implantadas). (42)
- Algunas enfermedades autoinmunes (tiroiditis de Hashimoto, artritis reumatoide, reacciones de hipersensibilidad por contacto). (42)
- Enfermedades granulomatosas primarias (Enfermedad de Crohn, sarcoidosis). (42)

La inflamación es crónica cuando persiste durante un periodo prolongado de tiempo y se produce destrucción simultánea del tejido e intentos de reparación. Puede ser secundaria a la inflamación aguda por persistencia del agente causante. (42)

4.3. ALTERACIONES PRINCIPALES DE LA INFLAMACIÓN

Durante la inflamación ocurren tres hechos importantes: (43)

- Aumento del aporte sanguíneo a la zona afectada. (43)
- Incremento de la permeabilidad capilar por retracción de las células capilares, esto permite que atraviesen a través del endotelio moléculas de mayor tamaño y que los anticuerpos junto al complemento lleguen al lugar de la inflamación. (43)
- Los leucocitos (neutrófilos y macrófagos) seguido por los linfocitos salen de los capilares a los tejidos circundantes; una vez en estos migran hacia el lugar de la lesión, bajo la dirección de los estímulos quimiotácticos. (43)

4.4. CLASES DE INFLAMACIÓN

Existen dos tipos de inflamación: Aguda y crónica. (Cuadro 1.3) (42)

CUADRO 1. 3
COMPARACIÓN DE LA INFLAMACIÓN AGUDA Y CRÓNICA (42)

	Inflamación aguda	Inflamación crónica
Respuesta	Reacción inmediata del tejido ante la agresión	Reacción persistente ante la lesión tisular
Inicio	Respuesta rápida	Respuesta lenta
Inmunidad	Innata	Mediada por células
Tipo celular predominante	Neutrófilo	Linfocitos, células plasmáticas, macrófagos
Duración	Horas a semanas	Semanas/meses/años
Respuesta vascular	Prominente	Menos importante

4.4.1. INFLAMACIÓN AGUDA

4.4.1.1. SIGNOS CLÁSICOS

- Enrojecimiento (rubor). (42)
- Calor. (42)
- Tumefacción (tumor). (42)
- Dolor. (42)
- Pérdida de función. (42)

4.4.1.2. RESPUESTA VASCULAR

– Vasodilatación generalizada (hiperemia)

El flujo de sangre hacia el lecho capilar esta normalmente limitado por los esfínteres pre-capilares. En la inflamación aguda se produce una fase de vasodilatación en la cual las arteriolas y los esfínteres pre-capilares se relajan. Esto se traduce en un incremento del flujo de sangre hacia la zona lesionada y en un incremento de la presión hidrostática. (42)

– Aumento de la permeabilidad vascular.

Las proteínas endoteliales intracelulares, como la actina, se contraen bajo la influencia de mediadores químicos de la inflamación, como la histamina, la bradisinina, el óxido nítrico y el leucotrieno B4. La contracción endotelial determina: aumento de las fenestraciones entre las células endoteliales, aumento de la permeabilidad vascular a las proteínas plasmáticas. (42)

Las proteínas salen del plasma hacia los espacios intersticiales, lo que reduce la presión oncótica del plasma. Este líquido extravasado rico en proteínas es un exudado que incluye componentes circundantes, como inmunoglobulinas y factores de la coagulación. (42)

– Edema inflamatorio.

El aumento combinado de la presión hidrostática (por hiperemia) y la reducción de la presión oncótica (por la fuga de proteínas hacia los espacios intersticiales)

determinan un desplazamiento neto de líquidos desde el plasma hacia los tejidos; que se denomina edema inflamatorio. Como consecuencia, la viscosidad de la sangre aumenta y la velocidad de flujo de la sangre se reduce. (42)

4.4.1.3. ACONTECIMIENTOS CELULARES

Los polimorfonucleares neutrófilos pasan entre las uniones de las células endoteliales e infiltran los tejidos lesionados para combatir los efectos de las lesiones. El desplazamiento de los leucocitos fuera de la luz vascular se llama extravasación y se produce en cinco estadios: (42)

- Marginación de la zona plasmática: se facilita por el flujo lento de la sangre (los leucocitos fluyen más cerca de la pared vascular de la zona plasmática que en el eje central circulatorio). (42)
- “Rodamiento” de los leucocitos por formación y destrucción repetida de adherencias transitorias con el endotelio. (42)
- Adhesión (pavimentado): al final los leucocitos se adhieren con firmeza al endotelio vascular, dada la interacción de las moléculas del leucocito y de la superficie de la célula endotelial, por ejemplo integrina β_2 e ICAM-1. (42)
- Transmigración (diapédesis) los leucocitos atraviesan las uniones de las células endoteliales mediante movimientos ameboides y pasan por la pared vascular hacia los espacios tisulares. (42)

- Quimiotaxis: los neutrófilos migran hacia las sustancias químicas (quimiotaxinas) que se liberan en los lugares de daño tisular. Se cree que estas quimiotaxinas son los leucotrienos, los componentes del complemento y los productos bacterianos. (42)

Fagocitosis y destrucción intracelular

Los neutrófilos y monocitos ingieren restos y partículas extrañas en el lugar lesionado. Los pseudópodos celulares atrapan las partículas extrañas y se fusionan para dar lugar a una vacuola fagocítica o fagosoma. La fagocitosis se facilita por la opsonización de inmunoglobulinas y componentes del complemento. (42)

Tras la fagocitosis, los leucotrienos tratan de destruir el material fagocitado mediante: descargas de enzimas lisosomales en el fagosoma, mecanismos dependientes de oxígeno (peróxido de hidrógeno), mecanismos independientes del oxígeno (peróxido, lactoferrina, lisozima e hidrolasas). (42)

4.4.2. INFLAMACIÓN CRÓNICA

La inflamación crónica viene marcada por: (42)

- Linfocitos. (42)
- Células plasmáticas (para la producción de anticuerpos). (42)
- Macrófagos (para la fagocitosis): algunos macrófagos se fusionan y forman células gigantes multinucleadas. (42)

Los macrófagos del tejido inflamado se forman por la transformación de los monocitos de la sangre. El número de macrófagos aumenta de forma gradual durante la inflamación aguda hasta que llegan a ser el tipo celular dominante en la inflamación crónica. Estos macrófagos se activan por numerosos estímulos, incluido el interferón gamma (INF γ), que es producido por los linfocitos activados. (42)

Los macrófagos van eliminando de forma gradual el tejido lesionado mediante fagocitosis y elaboran sustancias biológicamente activas (factores de crecimiento) que ayudan en la reparación mediante fibrosis. Esto permite la lenta sustitución del tejido lesionado por tejido de granulación. (42)

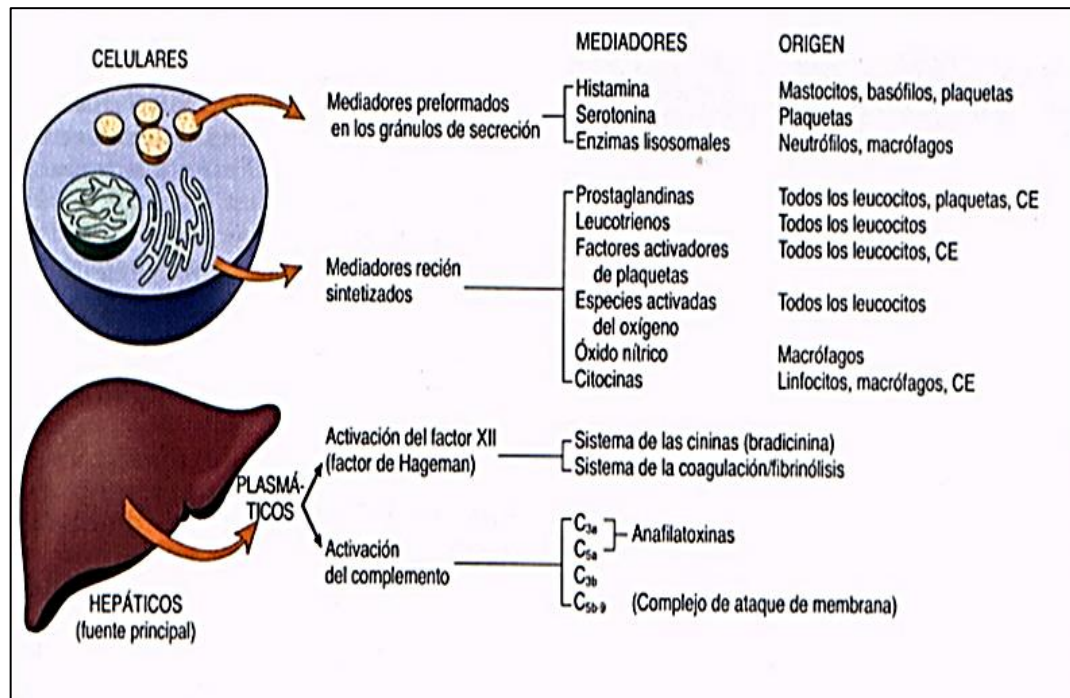
4.5. MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

Los mediadores químicos de la inflamación (Figura 1.3) pueden circular en el plasma (los sintetizados en el hígado) o producirse localmente por células presentes en el foco inflamatorio. Los mediadores derivados del plasma circulan como precursores inactivos que deben experimentar un desdoblamiento proteolítico para adquirir sus propiedades biológicas. (44)

La producción de mediadores activos esta desencadenada por productos microbianos o por proteínas del huésped, tales como las proteínas del complemento, cininas y sistema de coagulación que, a su vez, son activadas por microbios y tejidos dañados. (44)

A continuación se comentan los acontecimientos vasculares y celulares de la inflamación aguda. (44)

FIGURA 1.3
MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN. (44)



CE: Células endoteliales.

4.5.1. AMINAS VASOACTIVAS

Se trata de mediadores de la inflamación preformados que pueden ser liberados con rapidez por las células inflamatorias. El ejemplo más importante es la histamina, que se libera tras la desgranulación de los mastocitos. (42)

La **histamina** esta extensamente distribuida en los tejidos, en particular en los mastocitos adyacentes a los vasos, aunque también se encuentra en los basófilos y plaquetas circulantes. La histamina produce vasodilatación arteriolar y aumento de la permeabilidad vascular, lo que causa una contracción del endotelio venular y uniones interendoteliales. (42) (44)

La **serotonina** también es un mediador vasoactivo preformado, con efectos similares a los de histamina. (44)

4.5.2. NEUROPEPTIDOS

De forma análoga a las aminas vasoactivas, los neuropéptidos pueden desencadenar la respuesta inflamatoria; estos neuropéptidos son proteínas pequeñas que, como sustancia P, transmiten señales dolorosas, regulan el tono vascular y modulan la permeabilidad vascular. Las fibras nerviosas que secretan neuropéptidos son especialmente abundantes en el pulmón y el aparato digestivo. (44)

4.5.3. PROTEASAS PLASMÁTICAS

Muchos de los efectos de la inflamación están mediados por tres factores interrelacionados derivados del plasma: cininas, sistema de la coagulación y complemento, todos ellos vinculados con la actividad inicial del factor Hageman, también conocido como factor XII de la vía intrínseca de la coagulación. (44)

- **Sistema cininas:** produce bradicinina, proteína del interior del plasma. Actúa en la vasodilatación y produce contracción de la célula endotelial y consiguiente edema. (44)
- **Complemento:** es consecuencia en cascada de proteínas séricas y comprende más de 20 componentes; el producto activado de una proteína activa a la siguiente. Las proteínas del complemento realizan múltiples funciones en la respuesta del organismo frente a la infección. Este sistema se puede activar de cuatro formas durante la respuesta inflamatoria aguda: las células necróticas liberan enzimas capaces de activar el complemento, los complejos antígeno-anticuerpo activan el complemento por la vía clásica, las endotoxinas de las bacterias gramnegativas activan el complemento por la vía alternativa y los productos de los sistemas fibrinolíticos y de las quininas activan el complemento. (42) (44)

Son varias proteínas que se encuentran en el plasma en formas inactivas. La fracción **C3A** y **C5A** incrementan la permeabilidad vascular y producen vasodilatación, haciendo que los mastocitos liberen histamina. La fracción **C3B** actúa como opsonina en la fagocitosis. (44)

El complejo de ataque a membrana o (MAC) se forma típicamente en la superficie de una célula bacteriana patógena invasora como resultado de la activación del sistema del complemento. Es una de las vías finales del sistema inmunitario y como resultado de su formación se produce la lisis (muerte) celular del objetivo. (44)

- **Coagulación:** factor XIIa o factor de Hageman activado, inicia cuatro sistemas implicados en la respuesta inflamatoria: (44)
 - a) El sistema de las cininas, que produce cininas vasoactivas. (44)
 - b) El sistema de la coagulación que estimula la activación de la trombina, los fibrinopéptidos y el factor X, todos ellos con propiedades proinflamatorias. (44)
 - c) El sistema fibrinolítico, que produce fibrina y degrada la trombina. (44)
 - d) El sistema del complemento, del que producen las anafilatoxinas C3A y C5A. (44)
- Sistema fibrinolíticos: rol en la reparación. (44)

4.5.4. ÁCIDO ARAQUIDÓNICO, PROSTAGLANDINAS Y LEUCOTRIENOS

Durante la inflamación aguda, los fosfolípidos de la membrana de los neutrófilos, mastocitos y monocitos se metabolizan para formar **prostaglandinas y leucotrienos**; a partir de la liberación de ácido araquidónico mediada por fosfolipasas. La acción antiinflamatoria de los fármacos (glucocorticoides, AINEs) se debe a su capacidad de inhibir la producción de prostaglandinas. (42) (44) (45)

4.5.5. FACTORES ACTIVADORES DE LAS PLAQUETAS

Los **factores activadores de las plaquetas** son liberados por los mastocitos y neutrófilos durante la desgranulación. Tienen los siguientes efectos: (42) (44)

- Inducen la agregación y desgranulación plaquetaria. (42) (44)
- Aumentan la permeabilidad vascular. (42) (44)
- Inducen la adhesión de los leucocitos al endotelio. (42) (44)
- Estimulan la síntesis de los derivados del ácido araquidónico. (42) (44)

4.5.6. CITOCINAS

Las **citocinas** son una familia de mensajeros químicos que actúan a corta distancia (autocrinas y/o paracrinas) mediante la unión a receptores específicos de la superficie de las células diana. Incluyen: (42) (44)

- Linfocinas: citocinas producidas por los linfocitos. (42) (44)

- Monocinas: citocinas producidas por monocitos/macrófagos. (42) (44)
- Interleucinas: citocinas que actúan entre los leucocitos (más de 15 tipos). (42) (44)
- Interferones: inhiben la replicación de los virus dentro de las células y activan a los macrófagos y las células citolíticas naturales (NK) (42) (44)
- Factores de crecimiento. (42) (44)
- Factores de necrosis tumoral: destruyen células tumorales, pero también estimulan el catabolismo del tejido adiposo y muscular provocando pérdida de peso. (42) (44)

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 1 (IL-1) son citocinas claves en la inflamación aguda. (42) (44)

4.5.7. INTERLEUCINA 1 Y FACTOR DE NECROSIS TUMORAL

Ambas citocinas desencadenan el proceso de activación endotelial, que consiste en el incremento de la expresión de moléculas de adherencia, secreción de citocinas y factores de crecimiento adicionales, producción de eicosanoides y óxido nítrico. (42) (44)

4.5.8. QUIMIOCINAS

Son una familia de proteínas pequeñas (8 a 10 kD) estructuralmente relacionadas que actúan de forma predominante como quimioatrayentes para ciertos subgrupos de leucocitos. Forman combinaciones características para reclutar las poblaciones celulares concretas presentes en un foco inflamatorio dado. (42) (44)

4.5.9. ÓXIDO NÍTRICO

El **óxido nítrico** es un potente vasodilatador que se libera de las células endoteliales y macrófagos. Se produce por la acción de la sintasa del óxido nítrico sobre la L-arginina. El óxido nítrico se comporta como un regulador de la inflamación, reduciendo de forma activa los efectos de otros mediadores proinflamatorios. (42) (44)

4.5.10. RADICALES LIBRES DERIVADOS DEL OXIGENO

Los **radicales libres derivados del oxígeno** se sintetizan por la vía de la NADPH oxidasa y se liberan tras la estimulación de neutrófilos y macrófagos por factores quimiotácticos, inmunocomplejos o actividad fagocítica. (42) (44)

En concentraciones bajas, estos derivados reactivos del oxígeno pueden incrementar la expresión de quimiocinas, citocinas y moléculas de adherencia, con lo que amplifican la cascada de mediadores inflamatorios. Por fortuna, los tejidos y el suero disponen de varios mecanismos protectores antioxidantes para reducir al mínimo la toxicidad de los metabolitos del oxígeno. (42) (44)

4.5.11. COMPONENTES LISOSÓMICOS

Los gránulos lisosómicos de neutrófilos y monocitos contienen múltiples moléculas capaces de intervenir en la inflamación aguda. Estas sustancias pueden liberarse con la muerte celular, por extravasación durante la formación de las vacuolas fagocítica o por fagocitosis fallidas contra superficies grandes e indigeribles. (42) (44)

Si estos compuestos se vierten al exterior, pueden amplificar la respuesta inflamatoria, ya que estas **enzimas lisosomales** (elastasas, colagenasas, proteasas) tienen un efecto destructor sobre los tejidos; para contrarrestar

su efecto, existen antiproteasas en el suero, fundamentalmente la α 1-antitripsina, que es el principal inhibidor de la elastasa. Otra antiproteasa importante es la α 2-macroglobulina. (42) (44)

4.6. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Entre los fármacos capaces de reducir los signos y síntomas de la inflamación se encuentran los AINES y los glucocorticoides. (46)

4.6.1. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Los AINES son un grupo de medicamentos que pertenecen a diversas clases químicas como los derivados del ácido salicílico, derivados del p-aminofenol, derivados del indol y del ácido arilpropionico, derivados del ácido antranílico, derivados del ácido enólico y los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) como los coxibs. (46)

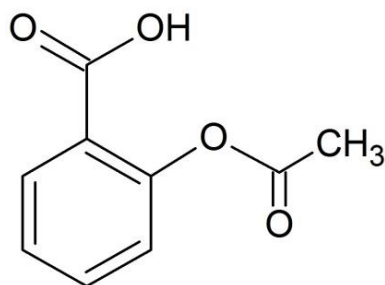
Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la producción de prostaglandinas porque impiden la acción de la enzima ciclooxigenasa, la cual facilita la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas. Estas sustancias se liberan en distintos tejidos, interviniendo en la producción de fiebre, dolor e inflamación. (47)

4.6.1.1. ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Tiene propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias. (48)

La Figura 1.4 muestra la estructura química del ácido acetilsalicílico.

FIGURA 1.4
ESTRUCTURA QUIMICA DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (49)



FUENTE: Elaboración propia. ChemSketch.

– **Mecanismo de acción:**

Inhibe de manera no selectiva a la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), que da como resultado el bloqueo de la biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos, acción que explica su efecto terapéutico y varios de sus efectos adversos. (48)

– **Farmacocinética:**

Absorción oral rápida a nivel del tracto gastrointestinal. Se une a proteínas plasmáticas en 80 a 90 % (salicilato). Su tiempo de vida medio es 15 a 20 minutos como AAS y como salicilato 2 a 3 horas (dosis bajas), 5 a 6 horas (dosis mayor a 1 g) o 10 a 12 horas (dosis mayores). Excreción renal como ácido salicílico y metabolitos conjugados. (48)

– **Dosis:**

Adultos:

- a) Analgésico y antipirético: VO 325-1000 mg c/3-6 horas según necesidad. (48)

- b) Antirreumático (antiinflamatorio): VO 3.6-5.4 g/día divididos en 4 a 6 dosis. (48)
- c) Profilaxis de infarto de miocardio: VO 80 a 325 mg/día. (48)
- d) Ataques isquémicos transitorios: VO 1g/día (la dosis puede ser disminuida a 325 mg/día si el paciente no tolera altas dosis). (48)

Niños:

- a) Analgésico y antipirético: VO 65-80 mg/kg/día dividido en 4 a 6 dosis. (48)
- b) Antirreumático: 80 – 100 mg/kg/día en dosis divididas. (48)

– **Reacciones adversas:**

Irritación gastrointestinal, náuseas, vómitos, molestias digestivas, anorexia, dispepsia, pirosis, sangrado oculto. (48)

4.6.2. GLUCOCORTICOIDES

Los glucocorticoides tienen múltiples aplicaciones terapéuticas. Una de sus propiedades más útiles es una potente acción antiinflamatoria que puede suprimir casos graves de inflamación. Dado sus potenciales efectos secundarios, los glucocorticoides sistémicos se reservan para el tratamiento a corto plazo de una enfermedad grave. (50)

Los glucocorticoides atraviesan la membrana citoplasmática e interactúan con receptores específicos ubicados en el citoplasma de células de

diversos tejidos diana. Producen un cambio en la conformación de estos receptores que facilita su translocación al interior del núcleo celular, afectando la transcripción de diferentes genes. (51)

Un mecanismo clave en la inhibición de la respuesta inflamatoria radica en la inducción de la expresión de la macrocortina o lipocortina, una proteína inhibidora de la fosfolipasa A₂, de esta manera interfiere en la producción de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, disminuyendo así la síntesis y liberación de sustancias proinflamatorias. (51)

4.7. COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL JENGIBRE

Se ha demostrado que el jengibre contiene constituyentes [por ejemplo, gingeroles y shogaoles] que tiene propiedades farmacológicas similares a la acción de los Antiinflamatorios no Esteroides (AINEs) (Flynn et al., 1968). Se sabe que tales inhibidores tienen menos efectos secundarios y son más eficaces que los convencionales AINEs (Charlier y Michaux, 2003; Martel-Pelletier et al., 2003). (52)

Estudios proporcionan información con respecto a la identificación de compuestos relacionados con gingerol, que tienen actividad anti-inflamatorio a través de la inhibición específica de la COX-2. Gingeroles y shogaoles inhiben selectivamente la ciclooxigenasa, la COX-2, pero no la forma constitutiva, la COX-1. Dado que la inhibición de la COX-1 se asocia con irritación gastrointestinal, la inhibición selectiva de la COX-2 debe ayudar a minimizar este efecto secundario. En general, en este estudio se encontró que el jengibre inhibe la COX-2 aproximadamente tres veces más de la COX-1. (Richard B. van Breemen et al., 2011) (53)

5. MÉTODOS DE VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Para valorar la actividad antiinflamatoria, los modelos experimentales más utilizados son:

5.1. EDEMA SUB-PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA

Consiste en provocar un edema en la región subplantar de la pata de la rata mediante la inyección de un agente flogógeno (carragenina), este mucopolisacárido de origen marino provoca una respuesta inflamatoria caracterizada por una serie de fases. La primera es precoz y debida al trauma de la inyección; a la que sigue un proceso bifásico mediado por diferentes autacoides: en la primera etapa, que se extiende durante la primera hora, intervienen aminas vasoactivas como la histamina y serotonina, mientras que en la segunda etapa, comprendida entre 1,5 y 2,5 horas, intervienen las cininas. En una fase tardía, desde las 2,5 a las 6 horas, las prostaglandinas son los principales mediadores de la inflamación.. (54)

5.2. EDEMA CON ACEITE DE CROTÓN EN LA OREJA DEL RATÓN

El aceite de crotón se obtiene de la especie *Croton tiglium L.* y posee propiedades irritantes, proinflamatorias y promotora de tumores. Estas propiedades se deben a que contiene una mezcla de ésteres del forbol, de la cual la sustancia más potente es el TPA.

La aplicación del TPA desencadena todos los eventos propios del proceso inflamatorio: vasodilatación y eritema entre 1-2 horas, extravasación y edema entre 3-4 horas, llegando al máximo a las 6-8 horas. A las 12-14 horas el edema desaparece, pero la vasodilatación y el eritema pueden persistir entre 24-48 horas. (54)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. DURACIÓN DEL ESTUDIO

La etapa preliminar (prueba piloto) y la etapa experimental (evaluación del efecto antiinflamatorio) tuvieron una duración de diez semanas, iniciando la investigación en el mes de Marzo del 2014.

2. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La investigación correspondiente a la planta (acondicionamiento de la planta, elaboración de extractos, formulación de las suspensiones) se realizó en el laboratorio de investigación (H-203) y el estudio pre-clínico en animales de experimentación se realizó en el Bioterio; ambos ubicados en el Campus de la Universidad Católica de Santa María.

3. MATERIALES

3.1. UNIDADES DE ESTUDIO

3.1.1. UNIDAD BOTÁNICA

Las muestras fueron rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), procedente del Supermercado Metro ubicado en el distrito Jacobo Hunter de Arequipa.

El material vegetal fue autenticado en el Herbarium Arequipense (HUSA), ubicado en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (Anexo 01).

3.1.2. UNIDAD BIOLÓGICA

Se utilizó 28 ratas entre machos y hembras, de la raza Holtzman, especie *Rattus rattus*, variedad albina; de aproximadamente 6 meses de edad, con un peso entre 180 y 270 gramos, provenientes del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María. Las cuales fueron sometidas a un proceso de adaptación que consistió en estandarizar las condiciones ambientales, alimenticias y evitar factores externos que sean impedimento de una óptima investigación; para su alimentación se utilizó maíz, trigo, engorde y agua, las cuales fueron repartidas en proporciones iguales y suficientes para que el animal pueda alimentarse a voluntad.

Las ratas fueron distribuidas en 2 grupos iniciales: Etapa preliminar (8 ratas, distribuidas en 4 subgrupos de dos ratas cada uno) y la etapa experimental (20 ratas, distribuidas en 5 grupos de cuatro ratas cada uno).

Antes de la etapa preliminar y experimental, respectivamente, se sometió a ayuno de 24 horas a las ratas a experimentar.

3.2. MATERIAL DE LABORATORIO, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.2.1. MATERIAL DE VIDRIO

- Baguetas.
- Capilares sin heparina.
- Cubas de desarrollo cromatográfico.
- Fiolas de 10 ml.
- Pipetas graduadas de 1ml, 5 ml y 10ml.
- Probetas graduadas de 100 ml.
- Termómetro de laboratorio.
- Vasos de precipitado de 100 ml, 150 ml y 250 ml.

3.2.2. APARATOS Y EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza analítica Ohaus Pioneer.
- Campana extractora.
- Equipo de Soxhlet de 150 ml.
- Equipo Rotavapor BUCHZ Switzerland R-114.
- Estufa Memmert 854 Shwabach-Germany.
- Lámpara de luz UV CAMAG.
- Pletismómetro Digital LE 7500

3.2.3. MATERIAL ANEXO

- Algodón.
- Cocina eléctrica.
- Cúter.
- Espátulas.
- Frascos de vidrio color ámbar.
- Guantes quirúrgicos.
- Hilo.
- Jaulas metálicas.

- Jeringas de 1ml y 5ml.
- Láminas de sílica gel 60 F₂₅₄
- Lápiz indeleble.
- Mortero.
- Olla metálica.
- Papel aluminio.
- Papel craft.
- Papel filtro.
- Pinzas.
- Pissetas.
- Regla.
- Soporte universal.
- Tijera.

3.2.4. REACTIVOS

- Acetato de etilo Q.P. (J. T. BAKER)
- Acetona (propanona) Q.P. (MERCK)
- Ácido acético glacial Q.P. (MERCK)
- Ácido sulfúrico Q.P. (MERCK)
- Agua destilada.
- Anisaldehído.
- Carboximetilcelulosa (LABOCHINI)
- Carragenina.
- Cloroformo (triclorometano) Q. P. (J. T. BAKER)
- Cloruro de sodio (NEQUINSA)
- Cloruro férrico Q.P. (RIEDEL-DE-HAEN).
- Etanol 96% (DELTA QUÍMICA)
- Éter de petróleo 36-60 °C Q.P. (J. T. BAKER)
- Hexano Q.P. (J. T. BAKER)

- Metanol Q.P. (MERCK)
- Tolueno Q. P. (J. T. BAKER)
- Tricloruro de aluminio Q.P. (RIEDEL-DE-HAEN)
- Tritón
- Tween 20 (MERCK)

4. MÉTODOS

4.1. RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

4.1.1. RECOLECCIÓN

Se compró los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en el Supermercado Metro ubicado en el Distrito Jacobo Hunter de Arequipa, donde indicaron que la muestra procedía de la ciudad de Chanchamayo.

4.1.2. SELECCIÓN

Se escogió los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en buen estado, separando los rizomas dañados; para posteriormente realizar triple lavado con una escobilla de uñas y abundante agua para eliminar restos de tierra, pelarlos cuidadosamente y cortarlos en finas laminas.

Cabe mencionar que los rizomas de jengibre comprados en el Supermercado Metro se encontraban en buen estado y sin alguna evidencia de insectos o plagas.

4.1.3. DESECACIÓN

Se procedió a colocar los rizomas cortados en finas láminas encima de papel craft, extendidas y separadas para que tenga una mayor superficie de contacto con el calor seco.

Posteriormente se colocó en las bandejas de acero de la estufa, y se sometió a calor seco, a una temperatura de 45 °C por un periodo de 48 horas ininterrumpidas. (55)

4.1.4. PULVERIZACIÓN

La pulverización se realizó en un mortero, hasta lograr un grado de trituración moderado y uniformidad del material vegetal, con el fin de incrementar la superficie de contacto durante la extracción con solventes.

4.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

4.2.1. MÉTODO

Extracción con equipo de Soxhlet.

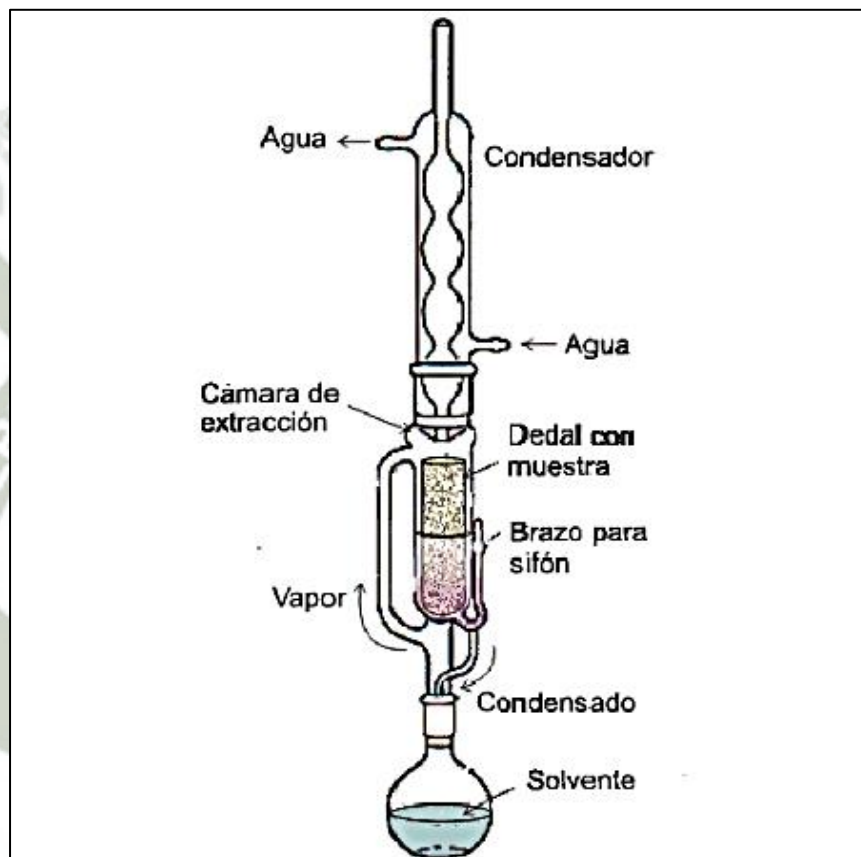
4.2.2. FUNDAMENTO

La extracción sólido-líquido, se usa a menudo para extraer un compuesto, a partir de su fuente natural, tal como una planta. Se escoge un solvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado, pero que deje los sólidos insolubles indeseados en la fuente natural. (56)

El sólido que se va a extraer se coloca en un dedal hecho de papel filtro, vidrio, porcelana porosa o fibra de vidrio. El dedal se inserta en el centro de la cámara de extracción. Un solvente de bajo punto de ebullición se coloca en el balón de destilación de fondo redondo y se calienta hasta reflujo. Los vapores suben hacia el condensador, donde se condensan. El líquido condensado cae dentro del dedal que contiene el sólido. El solvente caliente empieza a llenar el dedal y extrae el compuesto deseado a partir del material vegetal. Una vez que el dedal se llena con el solvente, el sifón hace que el solvente con el compuesto deseado disuelto, se regrese dentro del balón de destilación. El ciclo vaporización-

condensación-extracción-evacuación por el sifón, se repite varias veces, y el producto deseado se concentra en el balón de destilación. (Figura 2.1)
(56)

FIGURA 2.1
EQUIPO DE SOXHLET (56)



4.2.3. PROCEDIMIENTO

- Los materiales a utilizar se lavaron con abundante agua y detergente para hacerlo secar al medio ambiente.
- Se pesó 10 gramos de la muestra pulverizada, la cual se preparó en papel filtro previamente pesado y se colocó en la cámara de extracción del equipo de Soxhlet.

- Se pesó el balón de destilación, se registró su masa y se le añadió 150 ml de solvente, dependiendo del extracto que se requería preparar, utilizando para cada extracción éter de petróleo, cloroformo o etanol.
- Inmediatamente se armó el equipo de Soxhlet sobre baño María y se puso en funcionamiento el sistema. Siempre controlando que la temperatura del baño María no exceda la temperatura de ebullición del solvente.

Temperatura de ebullición: éter de petróleo (40 – 60 °C), cloroformo (61.2 °C) y etanol (78.3 °C) (datos obtenidos de los frascos originales de los solventes).

- Se realizó la extracción: con éter de petróleo por 3 horas, con cloroformo por 4 horas y con etanol por 6 horas; hasta que desaparezca la coloración amarilla en el solvente alojado en la cámara de extracción.

4.3. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN

4.3.1. MÉTODO

Evaporación a sequedad.

4.3.2. FUNDAMENTO

El porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) se fundamenta en la obtención del extracto concentrado a partir de la separación del solvente del principio activo, aplicándose una temperatura adecuada y sometándose el extracto a baño María hasta evaporación total del solvente, quedando suspendido en el fondo el principio activo que se desea obtener.

4.3.3. PROCEDIMIENTO

- Extracto éter de petróleo: una vez terminada la extracción por Soxhlet, se pasó el extracto éter de petróleo a un vaso precipitado previamente pesado y se eliminó el solvente por evaporación en baño María bajo campana, hasta que no se detecte olor al solvente.
- Extracto clorofórmico: una vez terminada la extracción por Soxhlet, se pasó el extracto clorofórmico a un vaso precipitado previamente pesado y se eliminó el solvente por evaporación en baño María bajo campana, hasta que no se detecte olor al solvente.
- Extracto etanólico: una vez terminada la extracción por Soxhlet, se colocó el extracto etanólico en un balón para su evaporación mediante el equipo rotavapor, seguidamente se procedió a su evaporación en baño María en un vaso precipitado previamente pesado.
- Se dejó secar y enfriar los vasos precipitados con los extractos blandos, para pesarlos y registrar sus masas hasta que presenten peso constante.
- Posteriormente se calculó el porcentaje de rendimiento del extracto, para calcular la dosis de los tratamientos.
- Los extractos blandos se utilizaron posteriormente para la etapa preliminar (extracto éter de petróleo, extracto clorofórmico y extracto etanólico) y la etapa experimental (extracto que tuvo mejor efecto en la etapa preliminar).

$$\% RE = \frac{\text{Peso extracto seco}}{\text{Peso planta seca}} \times 100$$

4.4. ETAPA PRELIMINAR - PRUEBA PILOTO

Se realizó con la finalidad de obtener extractos de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con solventes de diferente polaridad y determinar cuál de ellos tiene mejor efecto antiinflamatorio.

Se utilizó éter de petróleo como solvente apolar, cloroformo como solvente medianamente polar y etanol 96° como solvente polar.

4.4.1. CÁLCULO DE LAS DOSIS DE LOS TRATAMIENTOS

La determinación de la dosis se realizó considerando los siguientes datos:

- La dosis antiinflamatoria utilizada tradicionalmente es de 1 a 4 g de raíz seca para personas de 70 kg.
- Rendimiento de los extractos.
- Peso de los animales de experimentación (ratas).

Se consideró una dosis de 2.5 g de raíz seca para una persona de 70 kg, por ser la dosis intermedia con efecto antiinflamatorio que habitualmente se utiliza. Por lo tanto se utilizó 35.71 mg de raíz seca por kg de peso. Considerando el porcentaje de rendimiento de los extractos (véase el apartado 2 del Capítulo III), se determinaron dosis de extracto blando de 1.64 mg/kg para el extracto éter de petróleo, 2.44 mg/kg para el extracto clorofórmico y 4.25 mg/kg para el extracto etanólico. (Cuadro 2.1)

CUADRO 2. 1

CÁLCULO DE LAS DOSIS DE LOS EXTRACTOS BLANDOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

$D_{\text{ext.éter p.}} = \frac{2.5 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{4.60 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{1.64 \text{ mg}}{\text{kg}}$
$D_{\text{ext.clorof}} = \frac{2.5 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{6.85 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{2.44 \text{ mg}}{\text{kg}}$
$D_{\text{ext.etanol}} = \frac{2.5 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{11.90 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{4.25 \text{ mg}}{\text{kg}}$

Posteriormente para administrar los extractos por vía oral, se prepararon suspensiones, cada una con un extracto diferente y se administraron considerando la dosis calculada anteriormente y el peso de cada animal de experimentación.

Las formulaciones de las suspensiones fueron: (Cuadro 2.2)

CUADRO 2. 2

FORMULACIÓN DE LAS SUSPENSIONES DE LOS EXTRACTOS BLANDOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) Y CONTROL

FORMULACIÓN 1: Suspensión extracto éter de petróleo (0.016% p/v)		
Principio activo:	extracto éter de petróleo	4.92 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml
FORMULACIÓN 2: Suspensión extracto clorofórmico (0.024% p/v)		
Principio activo:	extracto clorofórmico	7.32 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml
FORMULACIÓN 3: Suspensión extracto etanólico (0.042% p/v)		
Principio activo:	extracto etanólico	12.75 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml
FORMULACIÓN 4: Vehículo para el grupo control		
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml

4.4.2. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA

Se utilizaron 8 animales de experimentación, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos de trabajo, de la siguiente manera:

- **Grupo control:** compuesto por 2 animales de experimentación, considerado como el grupo control, a los cuales se les administró por vía oral, el vehículo y los excipientes de las suspensiones.
- **Grupo experimental 1:** compuesto por 2 animales de experimentación, a los cuales se les administró por vía oral, la suspensión del extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg.
- **Grupo experimental 2:** compuesto por 2 animales de experimentación, a los cuales se les administró por vía oral, la suspensión del extracto clorofórmico 2.44 mg/kg.
- **Grupo experimental 3:** compuesto por 2 animales de experimentación, a los cuales se les administró por vía oral, la suspensión del extracto etanólico 4.25 mg/kg.

4.4.3. PROCEDIMIENTO

- Se evaluó el efecto antiinflamatorio de la misma forma descrita en la etapa experimental, evaluando el efecto antiinflamatorio con el equipo Pletismómetro Digital e induciendo la inflamación por el método de edema sub-plantar inducido por carragenina (véase los apartados 4.6.3, 4.6.4 y 4.6.5 y del Capítulo II).
- Se administraron las suspensiones de los extractos por vía oral, tres horas después de administrar el agente flogógeno (solución de carragenina 1%) por vía subcutánea. El grupo control solo recibió el vehículo y excipientes de las suspensiones.

- Se escogió el extracto con el mejor efecto antiinflamatorio, considerando las pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey.

4.5. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

4.5.1. MÉTODO

Cromatografía en capa fina (CCD o TLC)

4.5.2. FUNDAMENTO

La cromatografía en capa fina o capa delgada, es una forma de cromatografía de adsorción sólido-líquido, que consiste en la separación de componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. (38) (57)

En esta técnica, la muestra que será analizada, se aplica por medio de un tubo capilar muy fino sobre la superficie de un adsorbente inerte de sílica o alúmina (fase estacionaria). (38) (57)

Inicialmente la muestra aplicada en la placa es adsorbida en la superficie del material por la acción de las fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrogeno, etc. Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo líquido (fase móvil), por acción de capilaridad se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente. (38) (57)

Antes de que alcance el extremo superior de la placa, se detiene el flujo de disolvente retirando la placa de la cámara de desarrollo. Se debe señalar la posición de la mancha de sustrato, si esta es coloreada su localización es inmediata; si es incolora, debe hacerse visible de algún modo, mediante alguna técnica de revelado cromatográfico o bajo la luz

ultravioleta. Posteriormente se mide el recorrido de la mancha correspondiente a cada componente, para poder determinar los valores de R_f , los cuales expresan la relación entre el recorrido de cada componente de la mezcla con respecto al recorrido del solvente. (38) (57)

4.5.3. PROCEDIMIENTO

4.5.3.1. PREPARACIÓN DE LA FASE MOVIL

- Se mezcló en la cuba de desarrollo cromatográfico los solventes elegidos, en las proporciones indicadas y en un volumen adecuado para que este no llegue a la línea de sembrado en la fase estacionaria, aproximadamente 5ml.
- Se tapó la cuba de desarrollo cromatográfico y se dejó en reposo aproximadamente 10 minutos, con el fin de saturar la atmosfera del medio.

4.5.3.2. PREPARACIÓN DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA

- Se utilizó como fase estacionaria placas de sílica gel con soporte de aluminio, las cuales tuvieron dimensiones de 10x2 cm.
- Se trazó suavemente con un lápiz, una línea de aplicación aproximadamente a 1cm del borde inferior y otra línea a 1 cm del borde superior.
- Sobre la línea inferior trazada anteriormente sobre la placa, se procedió a sembrar por duplicado el extracto éter de petróleo mediante un tubo capilar muy fino, realizando aproximadamente diez siembras en cada punto.

- Se dejó secar para posteriormente colocar la placa en la cuba de desarrollo cromatográfico.

4.5.3.3. DESARROLLO CROMATOGRÁFICO

- Se introdujo la placa de forma vertical, con una ligera inclinación dentro de la cuba de desarrollo que contenía la fase móvil previamente preparada.
- Se desarrolló el cromatograma hasta que la fase móvil llegó a la línea superior trazada en la placa de sílica gel.
- Se retiró la placa para dejarla secar a medio ambiente por 15 minutos, posteriormente se observó a la luz UV delimitando las zonas donde se pudieron visualizar los componentes del extracto.

4.5.3.4. REVELADO

Pulverizar la placa de sílica gel con sus respectivos reveladores y secar en la estufa.

4.5.3.5. FACTOR DE RETENCIÓN O RETRASO (R_f)

Este factor se define como la relación entre la velocidad de desplazamiento del soluto y la velocidad de desplazamiento de la fase móvil. (58)

$$R_f = \left(\frac{Z_s}{Z_{fm}} \right)$$

Siendo, Z_s la distancia recorrida por la zona de soluto y Z_{fm} la distancia recorrida por la fase móvil. (58)

Los valores de R_f están situados entre 0 y 1. Si $R_f = 0$; el soluto no migra (no es soluble en la fase móvil), si $R_f = 1$; el soluto no es retenido por la fase estacionaria y se mueve con el frente del disolvente. Cuanto más diferentes son los valores de R_f de una mezcla de solutos, más factible es la identificación de los mismos. (58)

4.5.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES

4.5.4.1. Corrida general - gingerol:

Fase móvil: n-hexano – acetona (8:2). (59)

Revelador: Ácido sulfúrico al 10% en etanol. Aspersar y calentar 3-5 minutos a 100°C. (59) (34)

Evaluar a la luz visible o luz UV-365nm. (59) (34)

4.5.4.2. Terpenos:

Fase móvil: tolueno - acetato de etilo (90:10). (34)

Revelador: anisaldehido sulfúrico (solución recién preparada de 0.5 ml de anisaldehido en 50 ml de ácido acético glacial con adición de 1 ml de ácido sulfúrico cc.). (34)

Aspersar y calentar la placa a 100 – 105 °C para que se desarrolle colores violeta, azul, rojo, gris o verde. (34)

Evaluar en visible o UV-365 mn. (34)

4.5.4.3. Flavonoides:

Fase móvil: n-hexano – acetona (8:2). (59)

Revelador: cloruro de aluminio al 1% en etanol. (34)

Aspersar y observar fluorescencia amarilla a la luz UV-365nm. (34)

4.5.4.4. Taninos

Fase móvil: acetato de etilo - metanol (80:20) (34) (60) (59)

Revelador: cloruro de hierro III al 5% en etanol. (34) (60) (59)

Aspersar y observar manchas azules o verdes de fenoles, o rojas de ácidos hidroxámicos. (34) (60) (59)

4.6. ETAPA EXPERIMENTAL - EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

4.6.1. CÁLCULO DE LAS DOSIS DE LOS TRATAMIENTOS

La determinación de la dosis se realizó considerando los mismos datos de la prueba piloto (véase el apartado 4.4.1 del Capítulo II)

Se consideró las dosis de 1.0, 2.5 y 4.0 g de rizoma seco para una persona de 70 kg, porque estas dosis son las dosis mínimas, intermedias y máximas administradas tradicionalmente para el tratamiento de la inflamación.

Considerando el porcentaje de rendimiento del extracto blando éter de petróleo (4.60%), se determinaron dosis de 0.66, 1.64 y 2.63 mg/ kg. (Cuadro 2.3).

La dosis de ácido acetilsalicílico fue calculada de acuerdo a la dosis habitualmente administrada como antiinflamatorio, utilizándose 7.15 mg/kg de peso.

CUADRO 2. 3
CÁLCULO DE LAS DOSIS DEL EXTRACTO BLANDO ÉTER DE
PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

$D_1 = \frac{1.0 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{4.60 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{0.66 \text{ mg}}{\text{kg}}$
$D_2 = \frac{2.5 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{4.60 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{1.64 \text{ mg}}{\text{kg}}$
$D_3 = \frac{4.0 \text{ g R. seco}}{70 \text{ kg peso}} \times \frac{4.60 \text{ g Ext. blando}}{100 \text{ g R. seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \frac{2.63 \text{ mg}}{\text{kg}}$

4.6.2. FORMULACIÓN DE LAS SUSPENSIONES

Se realizaron las suspensiones con el objetivo de distribuir el extracto éter de petróleo en un vehículo en el cual es insoluble o presenta un grado de solubilidad mínima. La formulación de las suspensiones fueron: (Cuadro 2.4)

CUADRO 2. 4
FORMULACIÓN DE LAS SUSPENSIONES DEL EXTRACTO
BLANDO ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE), ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y CONTROL

FORMULACIÓN 1: Suspensión extracto éter de petróleo (0.006% p/v)		
Principio activo:	extracto éter de petróleo	1.98 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml
FORMULACIÓN 2: Suspensión extracto éter de petróleo (0.016% p/v)		
Principio activo:	extracto éter de petróleo	4.92 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml

FORMULACIÓN 3: Suspensión extracto éter de petróleo (0.026% p/v)

Principio activo:	extracto éter de petróleo	7.98 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml

FORMULACIÓN 4: Suspensión ácido acetilsalicílico (0.071% p/v)

Principio activo:	ácido acetilsalicílico	21.45 mg
Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml

FORMULACIÓN 5: Vehículo para el grupo control

Agente viscosante:	carboximetilcelulosa	0.15 g
Tensoactivo:	tween 20	0.5 ml
Vehículo:	agua destilada c.s.p.	30 ml

4.6.2.1. PROCEDIMIENTO

En un vaso precipitado, se pesó el extracto éter de petróleo y se mezcló enérgicamente con tween 20, posteriormente se agregó 10 ml de agua destilada manteniendo el sistema en agitación constante. En otro vaso precipitado, se pesó carboximetilcelulosa y se agregó 10 ml de agua destilada, dejando reposar hasta la hidratación completa de la carboximetilcelulosa. Finalmente se mezclaron cuidadosamente los contenidos de ambos vasos precipitados y se enrazó hasta 30 ml con agua destilada. El sistema se mantuvo en agitación constante, hasta que la suspensión sea homogénea.

4.6.3. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA

En la etapa experimental se emplearon 20 ratas, las cuales se dividieron en 5 grupos de 4 ratas cada uno, como se describe a continuación.

- **Grupo ácido acetilsalicílico:** administración por vía oral de la suspensión de ácido acetilsalicílico, a dosis de 7.15 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo control:** administración por vía oral del vehículo y excipientes de las suspensiones, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 1:** administración por vía oral de la suspensión de extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), a dosis de 0.66 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 2:** administración por vía oral de la suspensión de extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), a dosis de 1,64 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 3:** administración por vía oral de la suspensión de extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), a dosis de 2.63 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.

4.6.3.1. PROCEDIMIENTO

- Se aclimató las ratas y distribuyó aleatoriamente.
- Se armó y calibró el equipo Pletismómetro Digital.

- Se marcó horizontalmente a nivel de la aponeurosis de la pata, con un plumón indeleble, para así poder realizar las medidas con mayor exactitud.
- Se midió el volumen inicial de la pata, a tiempo cero.(T₀)
- Se inyectó por vía subcutánea 0.1ml del agente flogógeno (solución de carragenina al 1%) con una jeringa de tuberculina en la aponeurosis plantar de la rata.
- Se midió el volumen de la pata una hora después de administrado el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%) (T₁), dos horas después (T₂), y tres horas después (T₃).
- Inmediatamente después de la tercera hora de administrado el agente flogógeno, se administró por vía oral las suspensiones correspondientes al grupo control, grupo ácido acetilsalicílico y grupos experimentales. Se calculó la dosis de acuerdo al peso de los animales de experimentación.
- Se continuo midiendo el volumen de la pata, cuatro horas después de administrado el agente flogógeno (T₄), y así sucesivamente hasta las siete horas después (T₇).

4.6.4. MEDICIÓN DEL GRADO DE INFLAMACIÓN EN RATAS

4.6.4.1. MÉTODO

Medición con Pletismómetro Digital.

4.6.4.2. FUNDAMENTO

El Pletismómetro Digital LE 7500 es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de

los roedores, midiendo la variación del nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito. (61)

La introducción de un tejido (u objeto) en el recipiente cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en el recipiente. Este cambio se expresa en mililitros con una resolución de 0.01 ml. (61)

4.6.4.3. PROCEDIMIENTO

– Preparación de la solución:

La solución tuvo una concentración de 0.1% p/v de NaCl, es decir 0.5 g de cloruro de sodio por 500 ml de agua destilada no desionizada. Se añadió 8 gotas de tritón (para evitar que por tensión superficial el agua forme menisco cóncavo en las paredes de las vasijas) y se guardó en un envase. (61)

– Realización de las medidas.

Se encendió la UNIDAD DE CONTROL (LE 7500), se encendió el led HOLD y tras unos segundos el DISPLAY quedo en 0.00. (61)

Se giró la válvula para que entre solución en la vasija volumétrica, hasta que la solución llegó a la marca de la vasija volumétrica, se pulso el botón ZERO para indicar el punto de partida (0 mililitros de volumen). (61)

Se procedió a calibrar el instrumento (pulsar el botón ZERO, posteriormente se introduce completamente el calibre de 3 ml y se pulsa el botón CALIBRATION, el

display marcará 3.00; entonces retirar el calibre de la vasija volumétrica y el display deberá indicar nuevamente 0.00). (61)

Estando el display en 0.00 se introdujo la extremidad cuyo volumen se tenía que medir. (61)

4.6.5. INDUCCIÓN DE INFLAMACIÓN EN RATAS

4.6.5.1. MÉTODO

Método del edema sub-plantar inducido por carragenina (creado por Winter et al., modificado por Sugishita). (62) (63)

4.6.5.2. FUNDAMENTO

Consiste en la administración subcutánea de una pseudosolución de γ -carragenina, un mucopolisacarido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus*, a nivel de la aponeurosis plantar del cobayo, rata o ratón; provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por liberación de autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, etc.), además diversos factores del complemento están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar se puede administrar por diferentes vías (intraperitoneal, oral, etc.) (62) (63) (64)

Una hora después de la administración, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de 1.5 – 2.5 horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase esta mediada por las prostaglandinas. La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la

administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. (62)

4.6.5.3. PROCEDIMIENTO

- Se preparó una solución de cloruro de sodio al 0.9% (pesar 0.9 g de cloruro de sodio y disolver en 100 ml de agua)
- Se preparó una solución al 1% de carragenina (disolver 0.25 g de carragenina en 25 ml de solución fisiológica) en baño María, manteniendo agitación constante hasta la solubilidad de la carragenina (aproximadamente 30 minutos).

5. DISEÑO ESTADÍSTICO

Para el ordenamiento, interpretación y análisis estadístico de los datos en estudio se utilizó el Software Statgraphics Centurion y Microsoft Excel 2010, para lo cual se utilizaron los siguientes parámetros estadísticos:

5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

5.1.1. MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL

5.1.1.1. MEDIA ARITMÉTICA

La media aritmética que también se conoce como media o promedio, se calcula por medio de la siguiente fórmula: (65)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

5.1.2. MEDIDAS DE DISPERSIÓN

5.1.2.1. VARIANZA

Es una medida de dispersión, definida como la esperanza del cuadrado de la desviación de dicha variable respecto a su media.

(65)

$$s^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$$

5.1.2.2. DESVIACIÓN ESTANDAR

La raíz cuadrada positiva de la varianza, se define como desviación estándar. (65)

$$s = \left[\frac{1}{N} \sum (x - \bar{x})^2 \right]^{1/2}$$

La desviación estándar es la medida de variabilidad más importante y la que se usa con mayor frecuencia. Un valor relativamente pequeño implica concentración alrededor de la media aritmética. (65)

5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

5.2.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Es la herramienta fundamental para adentrarse en la naturaleza de la variación de los acontecimientos; permiten discernir mejor las causas de los fenómenos y los efectos de los factores involucrados. (66)

El ANOVA puede ser considerado como una manera de verificar si dos o más medias muestrales fueron extraídas de una misma población o de

poblaciones con el mismo valor esperado, para una magnitud clínica dada. En consecuencia, cuando estas medias muestrales no sean coincidentes, habrá que suponer que provienen de poblaciones diferentes por el efecto causado por un factor en estudio. (66)

El ANOVA es un método más general, que se extiende a más de dos muestras y se puede demostrar que coincide con Student si se aplica a solo dos muestras. Es decir, el modelo de Student es un caso particular del ANOVA. (66)

5.2.2. TEST DE TUKEY

La prueba de Tukey o prueba de Significación Honesta de Tukey (HSD) es un procedimiento de comparación múltiple de medias. Se utiliza en combinación con un ANOVA, para encontrar medias que son significativamente diferentes unas de otras. (66)

La prueba de Tukey compara las medias de cada tratamiento a las medias de cualquier otro tratamiento; es decir, se aplica simultáneamente al conjunto de todas las comparaciones por pares. (66)

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

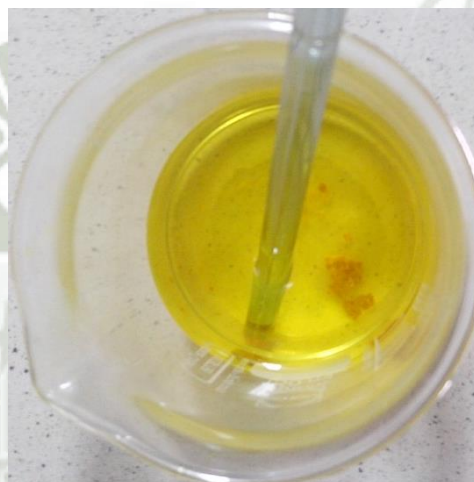
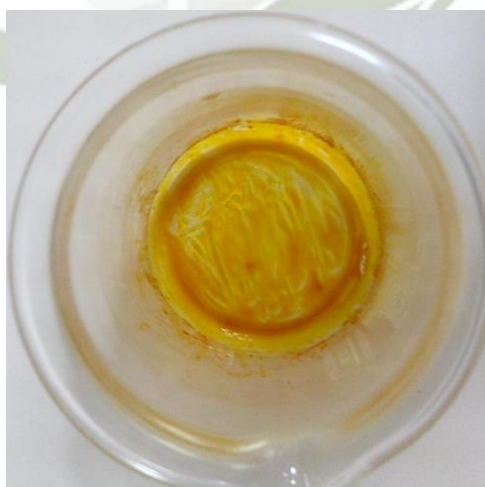
1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

Después de haber obtenido los líquidos extractivos (Figura 3.1) con éter de petróleo, cloroformo y etanol por el método continuo de Soxhlet, se procedió a evaporar los solventes, hasta obtener como resultado final extractos blandos de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). (Figura 3.2).

Los extractos blandos presentaron las siguientes características:

- Color: Amarillo intenso.
- Olor: *Sui generis*.
- Sabor: Picante.
- Aspecto: Límpido y uniforme.
- Consistencia: Blanda-resinoide.

El color del extracto blando, se debe principalmente a los polifenoles (gingeroles y shogaoles). El olor del extracto depende del aceite esencial, principalmente de los sesquiterpenos. El sabor picante del extracto de jengibre se debe principalmente a los shogaoles que se encuentran mayormente en el jengibre seco, pero también a los gingeroles, que se encuentran en su mayoría en el jengibre fresco. La consistencia blanda resinosa se debe a que el extracto está compuesto por aceites esenciales y resinas. (13) (14) (52)

FIGURA 3.1**LÍQUIDO EXTRACTIVO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)****FIGURA 3.2****EXTRACTO BLANDO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)**

2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS

Para determinar el porcentaje de rendimiento de los extractos, se tomó 10.0 g de rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) desecado y molido, para luego extraer los principios activos por el método continuo de extracción con disolventes (método de Soxhlet), utilizando solventes de diferente polaridad (éter de petróleo - apolar, cloroformo - medianamente polar, etanol - polar), posteriormente se evaporó el solvente hasta peso constante y se determinó el porcentaje de rendimiento del extracto.

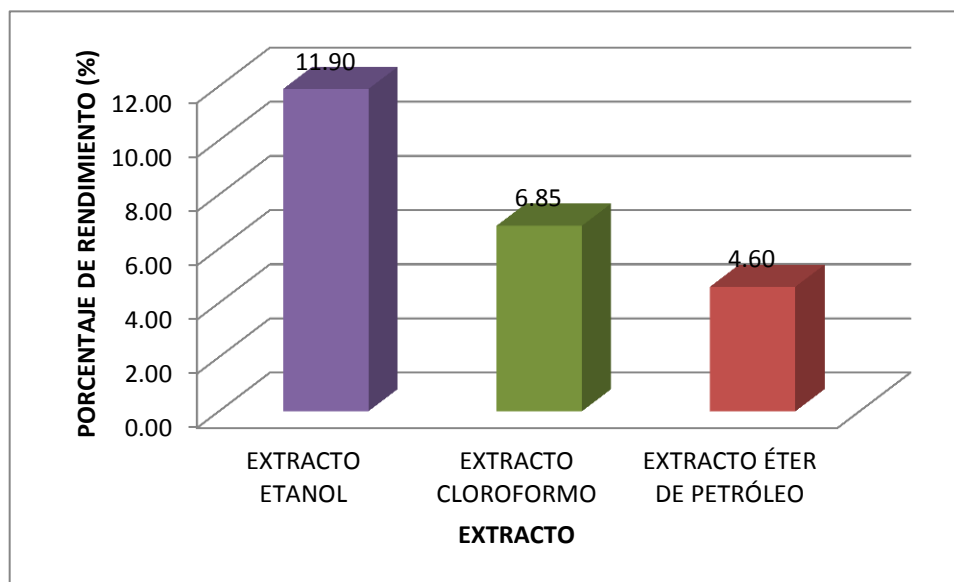
El extracto realizado con etanol presenta 11.90% de compuestos solubilizados, presentando el mayor porcentaje de rendimiento. (Figura 3.3) El extracto realizado con cloroformo presenta un 6.85% de rendimiento y el realizado con éter de petróleo un 4.60% de rendimiento. (Cuadro 3.1)

CUADRO 3.1
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS
BLANDOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)

Extracto		N° de extracción		
		1	2	Promedio
Etanólico	Peso rizoma seco (g)	10.00	10.00	10.00
	Peso extracto blando (g)	1.20	1.18	1.19
	% RE	12.00	11.80	11.90
Clorofórmico	Peso rizoma seco (g)	10.00	10.00	10.00
	Peso extracto blando (g)	0.69	0.68	0.69
	% RE	6.90	6.80	6.85
Éter de petróleo	Peso rizoma seco (g)	10.00	10.00	10.00
	Peso extracto blando (g)	0.45	0.47	0.46
	% RE	4.50	4.70	4.60

Fuente: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

FIGURA 3.3
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS
BLANDOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)



Fuente: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

El extracto blando realizado con etanol, es decir con el solvente polar, tuvo un porcentaje de rendimiento mayor, por su capacidad de solubilizar pectina, almidón y azúcares, además de otros compuestos solubilizados por los otros solventes. (15) (67) (68)

3. ETAPA PRELIMINAR - PRUEBA PILOTO

En la investigación se realizó una etapa preliminar (prueba piloto) para evaluar el extracto con mejor efecto antiinflamatorio, utilizando extractos con solventes de diferente polaridad; éter de petróleo como solvente apolar, cloroformo como solvente medianamente polar y etanol como solvente polar.

Se utilizó 8 ratas divididas en cuatro grupos (extracto éter de petróleo, extracto clorofórmico, extracto etanólico y un grupo control), cada grupo estuvo subdividido en subgrupos de dos ratas cada uno.

3.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

Observamos que existe mayor efecto antiinflamatorio en los grupos tratados con el extracto éter de petróleo y el extracto clorofórmico de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), a comparación de los grupos control y el extracto etanólico. (Cuadro 3.2)

CUADRO 3.2
PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN PRODUCIDOS EN EL GRUPO CONTROL
Y LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DE EXTRACTOS BLANDOS DE
***Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) DURANTE LA PRUEBA PILOTO**

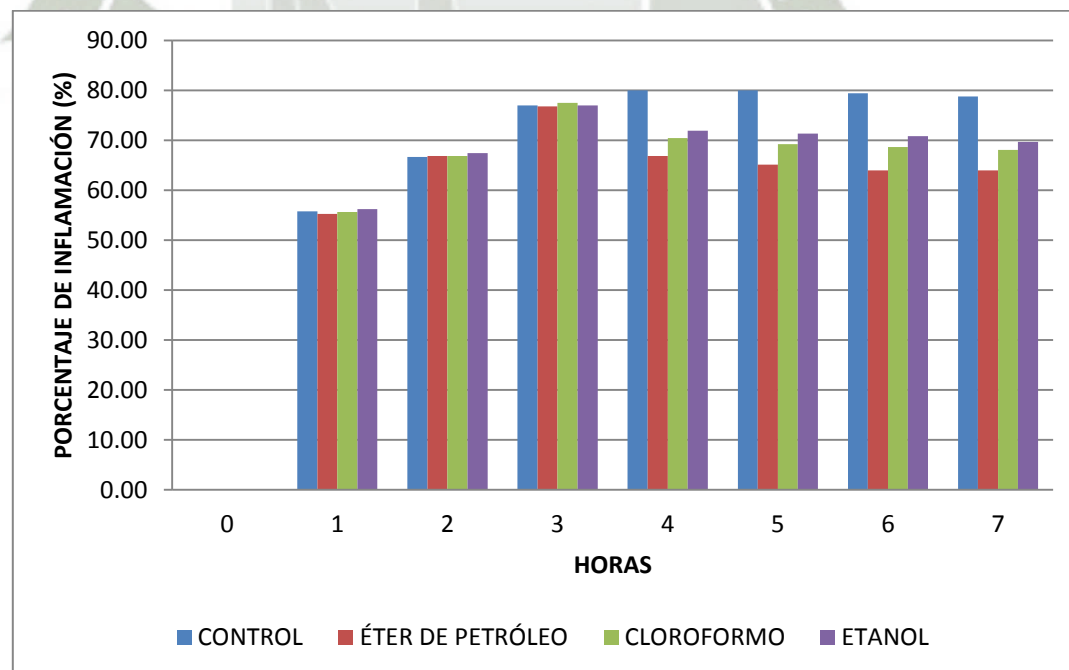
	Nº RA TA	0.0hr %	1.0hr %	2.0hr %	3.0hr %	4.0hr %	5.0hr %	6.0hr %	7.0hr %
CONTROL	1	0.00	55.00	65.00	77.50	80.00	80.00	78.75	78.75
	2	0.00	56.47	68.24	76.47	80.00	80.00	80.00	78.82
E. ÉTER DE PETRÓLEO	3	0.00	55.95	66.67	77.38	66.67	64.29	63.10	63.10
	4	0.00	54.55	67.05	76.14	67.05	65.91	64.77	64.77
E. CLOROFÓRMICO	5	0.00	53.57	65.48	76.19	70.24	69.05	69.05	67.86
	6	0.00	57.65	68.24	78.82	70.59	69.41	68.24	68.24
E. ETANÓLICO	7	0.00	57.30	68.54	76.40	71.91	71.91	70.79	69.66
	8	0.00	55.06	66.29	77.53	71.91	70.79	70.79	69.66

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

En la evolución del porcentaje de inflamación respecto al tiempo transcurrido (Figura 3.4), se puede observar que los grupos que recibieron tratamiento con los extractos éter de petróleo y clorofórmico tuvieron una reducción considerable del porcentaje de inflamación, una hora después de administrar por vía oral los tratamientos farmacológicos (los tratamientos farmacológicos se administraron a la tercera hora), notándose mayor reducción en el grupo que recibió tratamiento con el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre).

En base a los resultados obtenidos en esta prueba piloto, se procedió a realizar el análisis estadístico de ANOVA y Test de Tukey para comprobar que esta aseveración sea estadísticamente significativa.

FIGURA 3.4
EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO DEL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO CONTROL Y LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DE EXTRACTOS BLANDOS DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) DURANTE LA PRUEBA PILOTO



Fuente: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

3.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL DE ANOVA Y TUKEY

Análisis de varianza (ANOVA) y Test de Tukey por tipo de tratamiento.

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: $H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \bar{x}_3 = \bar{x}_4$

Hipótesis alternativa: $H_1: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \neq \bar{x}_3 \neq \bar{x}_4$

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación a las 4 horas de administrado el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%) (Cuadro 3.3), que es el tiempo aproximado en el cual se produjo la máxima inflamación (según el grupo control), observamos que el cociente F es igual a 1850.16. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 4 grupos de tratamientos sobre el porcentaje de inflamación, a un nivel de confianza del 95.0%. Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.4), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Según estas pruebas estadísticas, indica que los cuatro tratamientos son diferentes entre sí, aproximándose más el tratamiento con extracto etanólico de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) al grupo control, esto quiere decir que es el tratamiento que tuvo menor efecto antiinflamatorio. El grupo que más se aleja del grupo control, es el grupo tratado con el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), indicando que posee el mejor efecto antiinflamatorio.

CUADRO 3.3
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) AL 95.0% DE CONFIANZA PARA
EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN A LAS 4 HORAS DE
ADMINISTRAR EN AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P - Valor
Entre grupos	185.178	3	61.7259	1850.16	0.0000
Dentro de los grupos	0.13345	4	0.0333625		
Total	185.311	7			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.4
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE
DE INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO A LAS 4 HORAS
DE ADMINISTRAR EL AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
E. éter de petróleo	2	66.86	X
E. clorofórmico	2	70.415	X
E. etanólico	2	71.91	X
Control	2	80.0	X

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.5 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, cuatro horas después de administrar el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%) o una hora después de administrar los tratamientos farmacológicos por vía oral. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que ningún grupo se traslapa verticalmente, indicando pares de medias con diferencias estadísticamente significativa al 95.0% de confianza entre el grupo control, grupo extracto éter de petróleo, grupo extracto clorofórmico y grupo extracto etanólico.

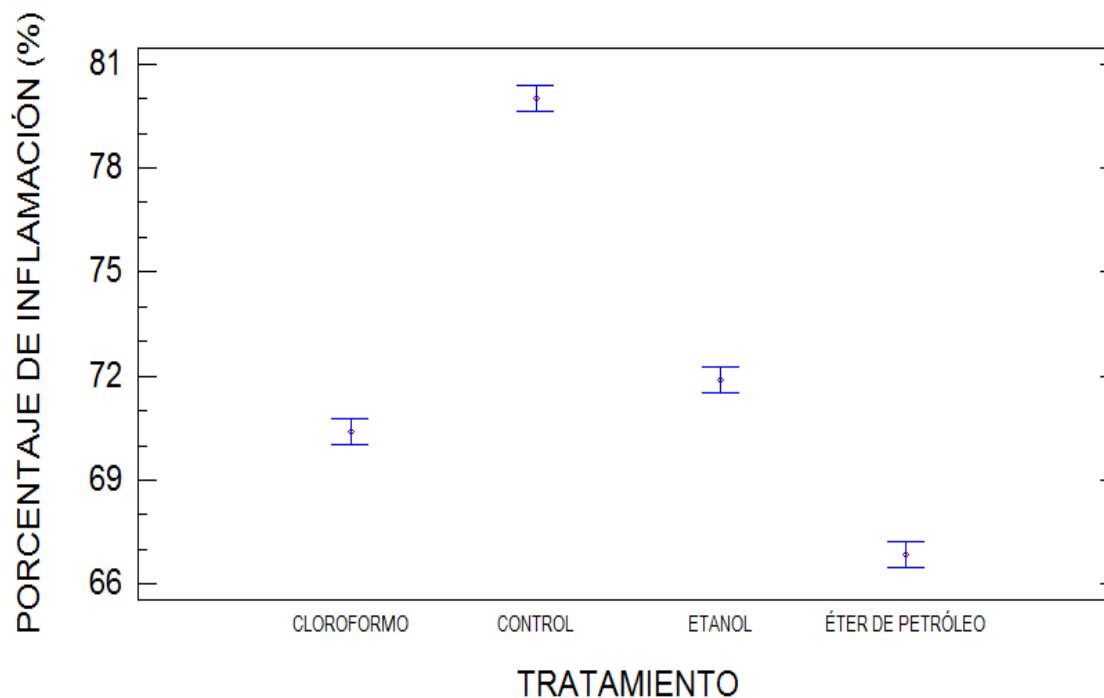
El grupo que más se aleja del grupo control, es el grupo tratado con el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), indicando que posee el mejor efecto antiinflamatorio, a comparación del grupo extracto clorofórmico y extracto etanólico.

Según el estudio: “Kinetic studies on *Zingiber officinale*”, presentado por Amir Shadmani, et al., los compuestos a los que se les atribuye el efecto antiinflamatorio son: gingerol, shogaol, paradol y zingerone, los cuales son extraídos con mejor eficiencia con solventes de baja polaridad (en esta investigación, éter de petróleo). (16) (17) (69).

Los datos vertidos por la investigación de Amir Shadmani, contrastan con los resultados de esta investigación, ya que el extracto menos polar (éter de petróleo) es el que tuvo mejor efecto antiinflamatorio durante la prueba piloto.

En base a estos resultados, se procedió a realizar a etapa experimental con el extracto éter de petróleo del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), utilizando tres dosis diferentes; ya que es el que tuvo mejor efecto antiinflamatorio.

FIGURA 3.5
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL
95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN CUATRO
HORA DESPUES DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

4. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

En la cromatografía en capa fina del extracto éter de petróleo del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre); utilizando las fases estacionarias, fases móviles y reveladores correspondientes (Cuadro 3.5), se pudo identificar gingerol con un R_f de 0.15, bandas amarillas a la luz UV-366nm indicando la presencia de flavonoides, bandas de color rojo y amarillo con revelador anisaldehído sulfúrico que indicaban la presencia de terpenos; pero no se evidenció la presencia de taninos con el revelador cloruro de hierro al 5 % en etanol.

CUADRO 3.5

**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO
DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)**

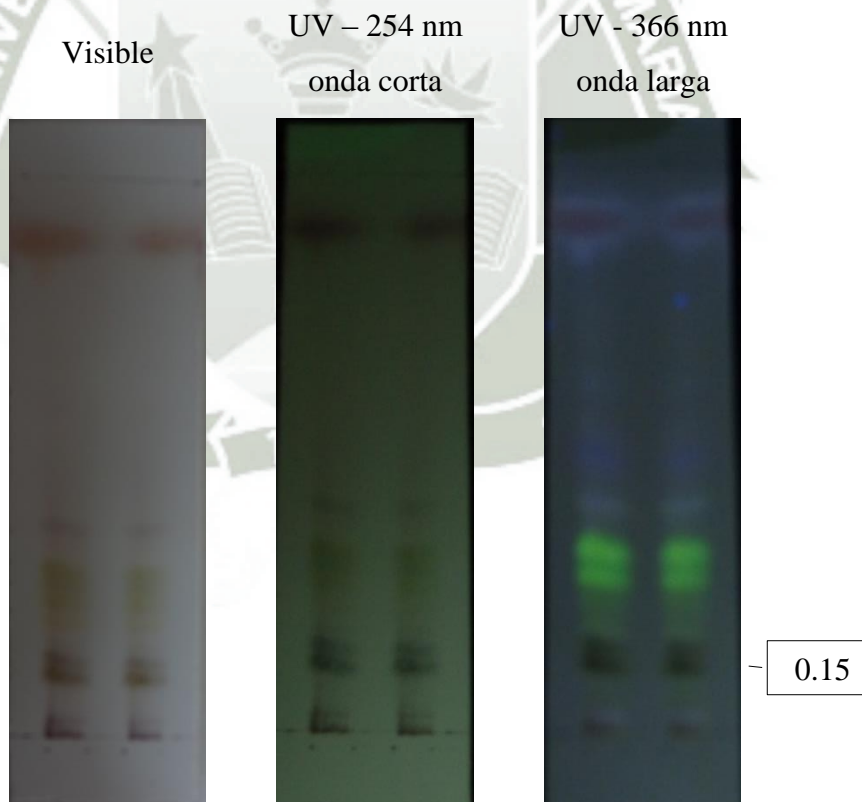
Compuestos secundarios	Fase estacionaria	Fase móvil	Revelador	Color
Corrida general	Sílica gel	n-hexano : Acetona (8:2)	Ácido sulfúrico al 10% en etanol	Verde oscuro (gingerol) (visible)
Terpenos	Sílica gel	Tolueno: Acetato de etilo (90:10)	Anisaldehido sulfúrico	Rojo y amarillo (visible)
Flavonoides	Sílica gel	n-hexano : Acetona (8:2)	Cloruro de aluminio al 1 % en etanol	Amarillas (UV – 366nm)
Taninos	Sílica gel	Acetato de etilo: Metanol (80:20)	Cloruro de hierro al 5% en etanol	-----

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Word 2010.

4.1. CORRIDA GENERAL

Este análisis se realizó con la finalidad de determinar la presencia de gingerol en el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), según la investigación “Characterization of 6-Gingerol for In Vivo and In Vitro Ginger (*Zingiber officinale*) Using High Performance Liquid Chromatography” realizada por Usama I. Aly, et al., el valor de Rf de referencia para el 6-gingerol es 0,15 (59). En la placa cromatográfica desarrollada (Figura 3.6) se observa una banda de color verde oscuro, con un Rf de 0.15 que indicaría la presencia de gingerol en la muestra.

FIGURA 3.6
ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO GENERAL DEL EXTRACTO
ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)



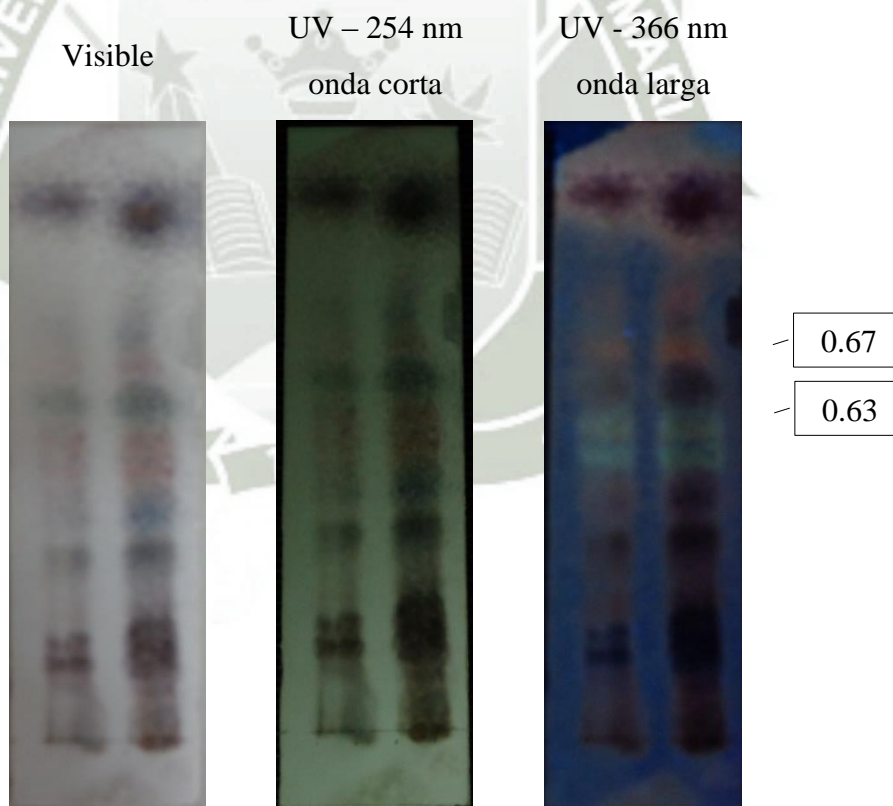
4.2. DETERMINACIÓN DE TERPENOS

Se observa (Figura 3.7) bandas rojas y amarillas a la luz visible con el revelador anisaldehído sulfúrico, lo que evidencia la presencia de terpenos en el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). (60)

Los terpenos presentes en el *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). Son principalmente: monoterpenos (citral, geraniol) y sesquiterpenos (zingibereno, curcumeno) (13) (14)

FIGURA 3.7

**ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE TERPENOS DEL
EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE)**



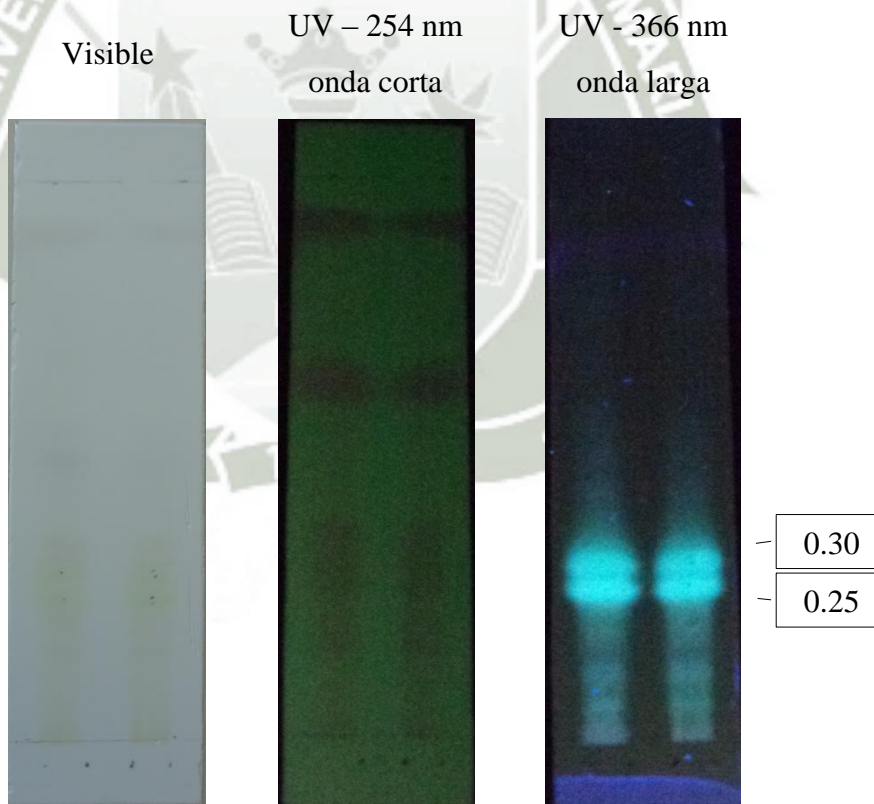
4.3. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES

Se observa (Figura 3.8) fluorescencia amarilla en la luz UV a 366nm, lo cual evidencia la presencia de flavonoides en el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). (60)

Los flavonoides presentes en *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), son principalmente, la quercetina, rutina, catequina, epicatequina, kaempferol y naringenina. (70)

FIGURA 3.8

**ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE FLAVONOIDES DEL
EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE)**



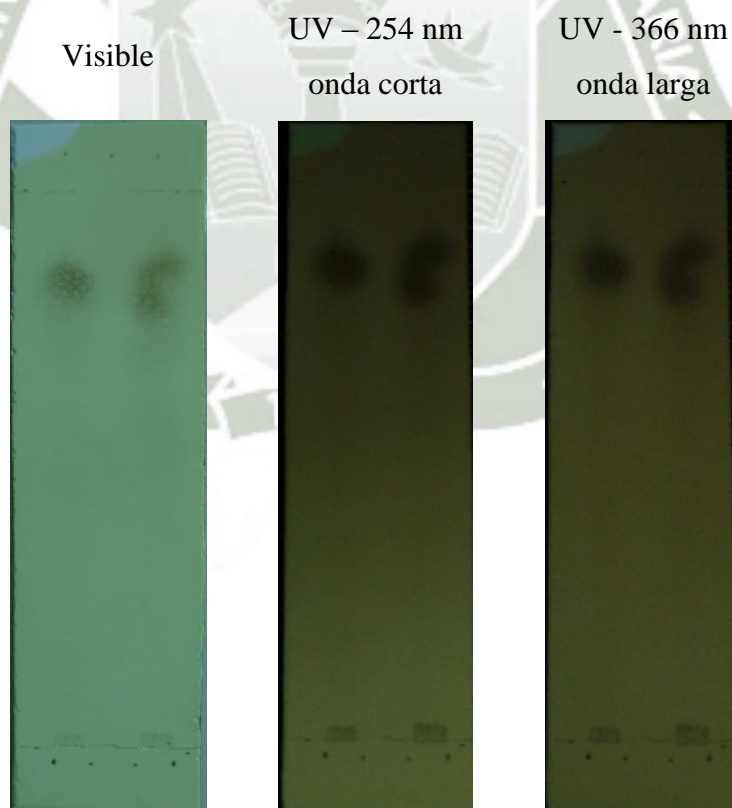
4.4. DETERMINACIÓN DE TANINOS

No se observa bandas a la luz visible ni en luz UV (Figura 3.9), lo cual indicaría la ausencia de taninos en el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). (71)

Los taninos son solubles en agua (forman soluciones coloidales), y en solventes orgánicos polares (acetona, alcohol, glicerina) pero son insolubles en solventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo). (34) Esta propiedad fisicoquímica de los taninos explicaría porque no se evidencia la presencia de taninos en la muestra.

FIGURA 3.9

**ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE TANINOS DEL EXTRACTO
ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE)**



5. ETAPA EXPERIMENTAL - EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

Luego de evaluar los resultados obtenidos en la prueba piloto, se determinó que el extracto blando realizado con éter de petróleo tenía mejor efecto antiinflamatorio, posteriormente se realizó la prueba definitiva utilizando dicho extracto en diferentes concentraciones (0.66, 1.64 y 2.63 mg/kg), comparándolos con un grupo control (vehículo y excipientes de los extractos) y otro grupo ácido acetilsalicílico (ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg de peso).

5.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

En el Cuadro 3.6 se observa el resultado de los porcentajes de inflamación de los diferentes grupos experimentales, calculados a partir de las unidades en mililitros, dados por el equipo Pletismómetro Digital. El porcentaje de inflamación fue calculado con la fórmula del Anexo 04.

El porcentaje de inflamación fue calculado desde una hora después de administrar el agente flogógeno (solución de carragenina al 1%), hasta siete horas después. Los tratamientos (suspensiones de extracto éter de petróleo, control y ácido acetilsalicílico) fueron administrados tres horas después de administrar el agente flogógeno.

Existe un mayor efecto antiinflamatorio en los grupos ácido acetilsalicílico y el grupo extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg, a partir de la cuarta hora (Figura 3.10), dado que en la tercera hora se administraron los tratamientos farmacológicos y tras su absorción en el tracto gastrointestinal, los principales metabolitos antiinflamatorios ejercen su efecto.

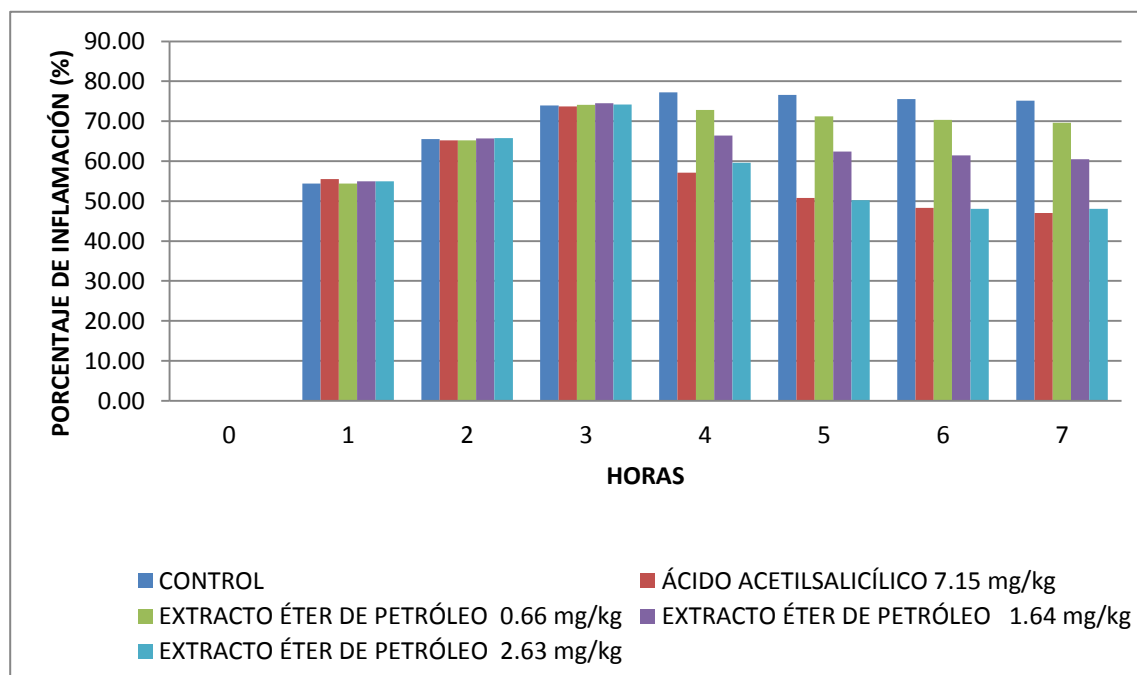
En base a estos resultados se procedió a realizar las pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey, para verificar que estas aseveraciones sean estadísticamente significativas.

CUADRO 3.6
PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN PRODUCIDOS POR LOS GRUPOS
CONTROL, ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y EXTRACTOS BLANDOS ÉTER DE
PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) EN LA ETAPA
EXPERIMENTAL

	N° RA TA	0.0hrs %	1.0hrs %	2.0 hrs %	3.0hrs %	4.0hrs %	5.0hrs %	6.0hrs %	7.0hrs %
CONTROL	1	0.00	53.13	65.63	75.00	78.13	78.13	75.00	75.00
	2	0.00	55.00	65.00	73.75	78.75	77.50	77.50	77.50
	3	0.00	54.79	67.12	78.08	79.45	78.08	78.08	76.71
	4	0.00	54.76	64.29	69.05	72.62	72.62	71.43	71.43
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO 7.15 mg/kg	5	0.00	56.25	66.25	75.00	58.75	53.75	50.00	47.50
	6	0.00	55.26	64.47	73.68	57.89	51.32	47.37	46.05
	7	0.00	55.42	65.06	72.29	55.42	49.40	48.19	46.99
	8	0.00	55.00	65.00	73.75	56.25	48.75	47.50	47.50
E. ÉTER DE PETRÓLEO 0.66 mg/kg	9	0.00	55.29	64.71	72.94	70.59	68.24	67.06	67.06
	10	0.00	54.67	65.33	74.67	73.33	72.00	70.67	70.67
	11	0.00	51.76	63.53	72.94	72.94	71.76	70.59	69.41
	12	0.00	55.71	67.14	75.71	74.29	72.86	72.86	71.43
E. ÉTER DE PETRÓLEO 1.64 mg/kg	13	0.00	53.95	64.47	75.00	65.79	57.89	55.26	55.26
	14	0.00	54.05	67.57	74.32	67.57	64.86	63.51	63.51
	15	0.00	56.94	65.28	75.00	66.67	63.89	63.89	62.50
	16	0.00	54.76	65.48	73.81	65.48	63.10	63.10	60.71
E. ÉTER DE PETRÓLEO 2.63 mg/kg	17	0.00	54.88	68.29	75.61	60.98	51.22	48.78	48.78
	18	0.00	58.75	70.00	75.00	60.00	52.50	50.00	50.00
	19	0.00	52.94	63.53	74.12	60.00	50.59	49.41	49.41
	20	0.00	53.33	61.33	72.00	57.33	46.67	44.00	44.00

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

FIGURA 3.10
MEDIAS DE LOS PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS CONTROL, ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y EXTRACTOS BLANDOS ÉTER DE PETRÓLEO DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) EN LA ETAPA EXPERIMENTAL



Fuente: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL DE ANOVA Y TUKEY

5.2.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO UNA HORA DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido una hora después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.7), observamos que el cociente F es igual a 0.32. También observamos que el P-valor de la prueba F es superior a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.8), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos; se identificó que todos los grupos son homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's. El Test de Tukey, corrobora lo determinado en el análisis de varianza de ANOVA.

CUADRO 3.7
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN UNA HORA DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	3.38857	4	0.847143	0.32	0.8595
Dentro de los grupos	39.5824	15	2.63882		
Total	42.9709	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.8
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO UNA HORA DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	54.3575	X
Control	4	54.42	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	54.925	X
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	54.975	X
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	55.4825	X

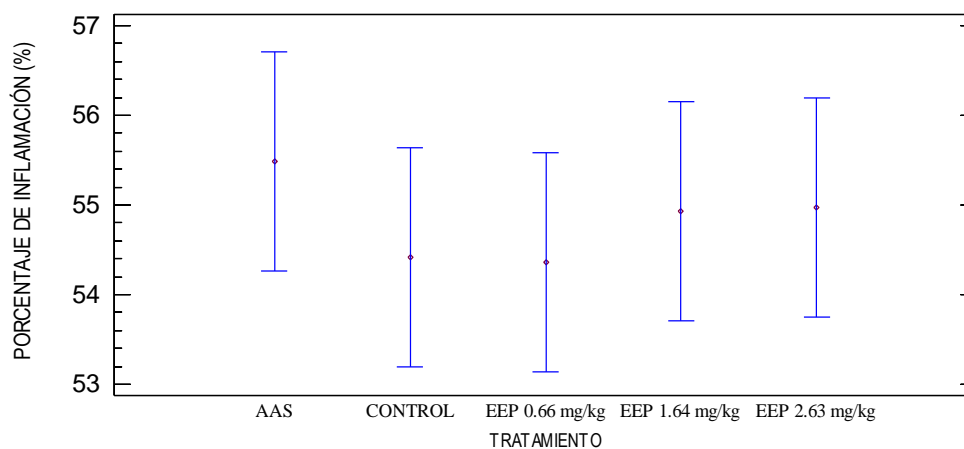
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.11 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, una hora después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS), control, extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg (EEP 1.64 mg/kg) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Es correcto que no se observe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos, una hora después de administrar el agente flogógeno, dado que hasta este momento todos los grupos se sometieron a las mismas condiciones de experimentación.

FIGURA 3.11
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN UNA HORA DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DOS HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido dos horas después de administrar a solución de carragenina (Cuadro 3.9), observamos que el cociente F es igual a 0.07. También observamos que el P-valor de la prueba F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.10), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificó que todos los grupos son homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's. El Test de Tukey, corrobora lo determinado en el análisis de varianza de ANOVA.

CUADRO 3.9
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DOS HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	1.26563	4	0.316408	0.07	0.9899
Dentro de los grupos	67.0653	15	4.47102		
Total	68.3309	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.10
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE
INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO DOS HORAS DESPUÉS DEL
AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	65.1775	X
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	65.195	X
Control	4	65.51	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	65.7	X
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	65.7875	X

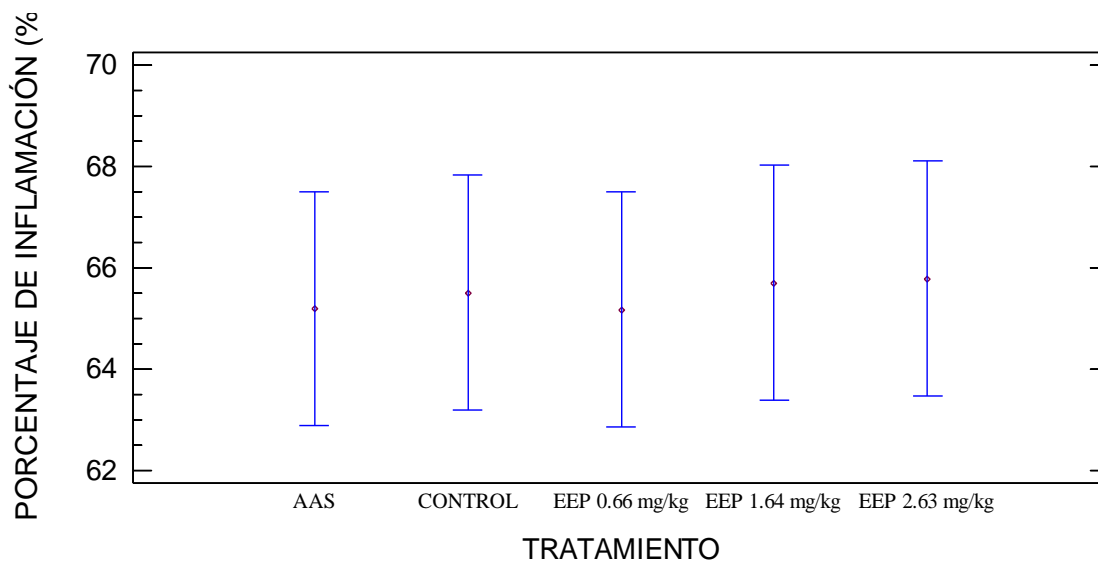
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.12 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, dos horas después de administrado el agente flogógeno (solución de carragenina 1%). También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS), control, extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg (EEP 1.64 mg/kg) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Dos horas después de administrar el agente flogógeno, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos, dado que hasta ese momento todos los grupos se sometieron a las mismas condiciones de experimentación y aun no se administró tratamiento farmacológico los grupos de experimentación.

FIGURA 3.12
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL
95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DOS
HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO TRES HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido tres horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.11), observamos que el cociente F es igual a 0.10. También observamos que el P-valor de la prueba F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.12), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificó que todos los grupos son homogéneos según la alineación de las X's en columnas,

indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's.

El Test de Tukey, corrobora lo determinado en el análisis de varianza de ANOVA.

CUADRO 3.11
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN TRES HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	1.54963	4	0.387408	0.10	0.9819
Dentro de los grupos	59.968	15	3.99787		
Total	61.5177	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.12
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO TRES HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	73.68	X
Control	4	73.97	X
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	74.065	X
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	74.1825	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	74.5325	X

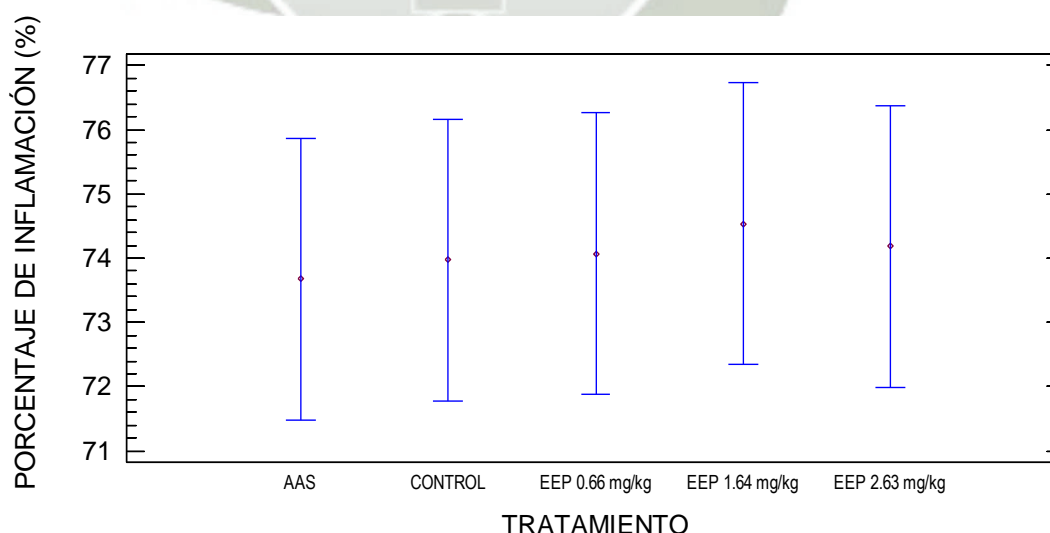
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.13 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, tres horas después de administrada la solución de carragenina. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS), control, extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg (EEP 1.64 mg/kg) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Tres hora después de administrar el agente flogógeno, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos, dado que hasta este momento todos los grupos se sometieron a las mismas condiciones. Las suspensiones con las diferentes dosis de extracto éter de petróleo, ácido acetilsalicílico y el vehículo de las suspensiones fueron administradas respectivamente a cada grupo, inmediatamente después de terminar la medición a la tercera hora.

FIGURA 3.13
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN TRES HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO CUATRO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido cuatro horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.13), observamos que el cociente F es igual a 81.53. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.14), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y éter de petróleo 2.63 mg/kg.

CUADRO 3.13
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN CUATRO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	1165.94	4	291.484	81.53	0.0000
Dentro de los grupos	53.6278	15	3.57518		
Total	1219.56	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.14
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE
INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO CUATRO HORAS DESPUÉS
DEL AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	57.0775	X
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	59.5775	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	66.3775	X
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	72.7875	X
Control	4	77.2375	X

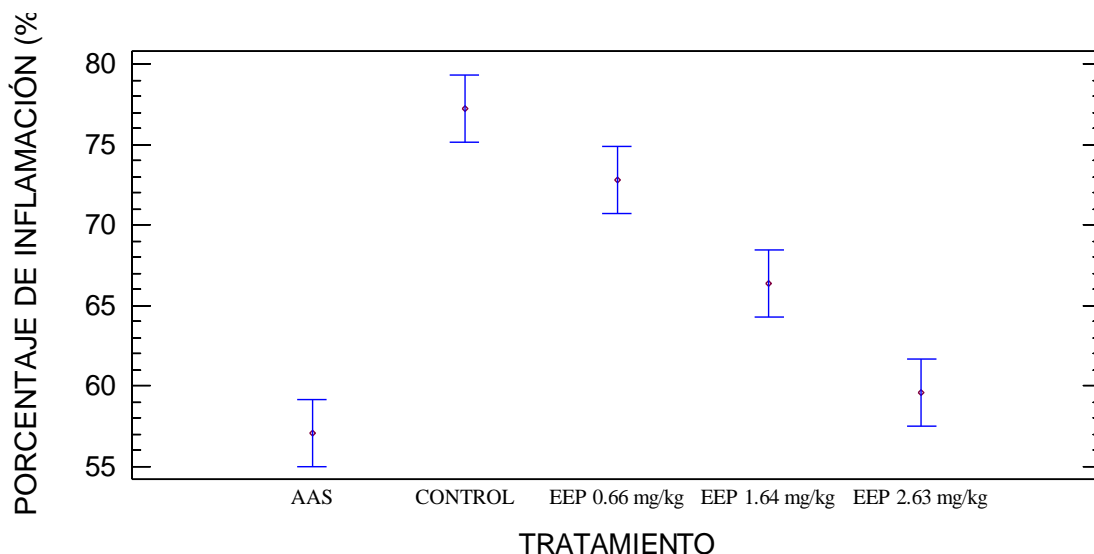
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.14 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, cuatro horas después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapan verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa. Sin embargo los grupos control, extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg (EEP 1.64 mg/kg) no se traslapan entre sí, indicando diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

Pasada una hora de administración de los tratamientos farmacológicos, se afirma que el extracto blando éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) tiene la misma actividad antiinflamatoria que el ácido acetilsalicílico 7.15mg/kg (AAS).

FIGURA 3.14
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL
95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN CUATRO
HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO CINCO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido cinco horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.15), observamos que el cociente F es igual a 86.91. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos al 95.0% de confianza.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.16), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 3 grupos

homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y éter de petróleo 2.63 mg/kg; se observa que tampoco existe diferencia entre el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg y el grupo control.

CUADRO 3.15
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN CINCO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	2243.74	4	560.934	86.91	0.0000
Dentro de los grupos	96.8179	15	6.45452		
Total	2340.55	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.16
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO CINCO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	50.245	X
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	50.805	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	62.435	X
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	71.215	X
Control	4	76.5825	X

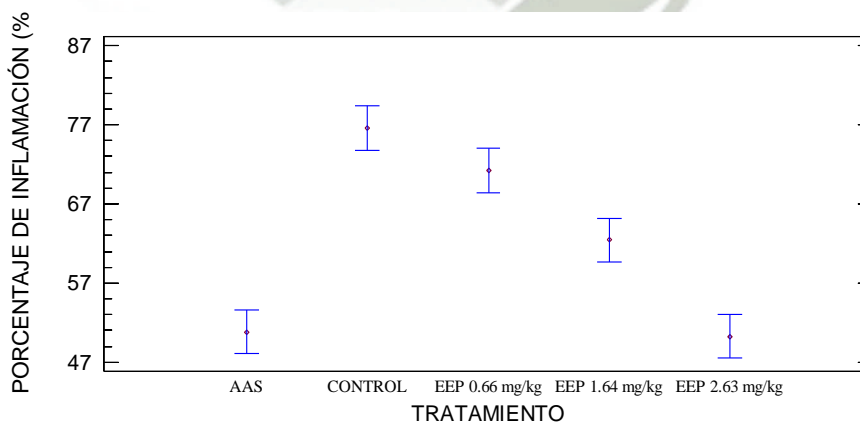
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.15 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, cinco horas después de administrada la solución de carragenina. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente; también el grupo control se traslapa verticalmente con el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Se puede observar que cada vez que se incrementa la dosis de los tratamientos de extracto blando éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), este tiene un mayor efecto antiinflamatorio; pero la dosis de extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg) no tiene ningún efecto antiinflamatorio, ya que es estadísticamente igual al grupo control.

FIGURA 3.15
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN CINCO HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SEIS HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido seis horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.17), observamos que el cociente F es igual a 76.41. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.18), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y éter de petróleo 2.63 mg/kg; se observa que tampoco existe diferencia entre el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg y el grupo control.

CUADRO 3.17
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN SEIS HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	2505.76	4	626.44	76.41	0.0000
Dentro de los grupos	122.968	15	8.19789		
Total	2628.73	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.18
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE
INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO SEIS HORAS DESPUÉS DEL
AGENTE FLOGÓGENO

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	48.0475	X
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	48.265	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	61.44	X
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	70.295	X
Control	4	75.5025	X

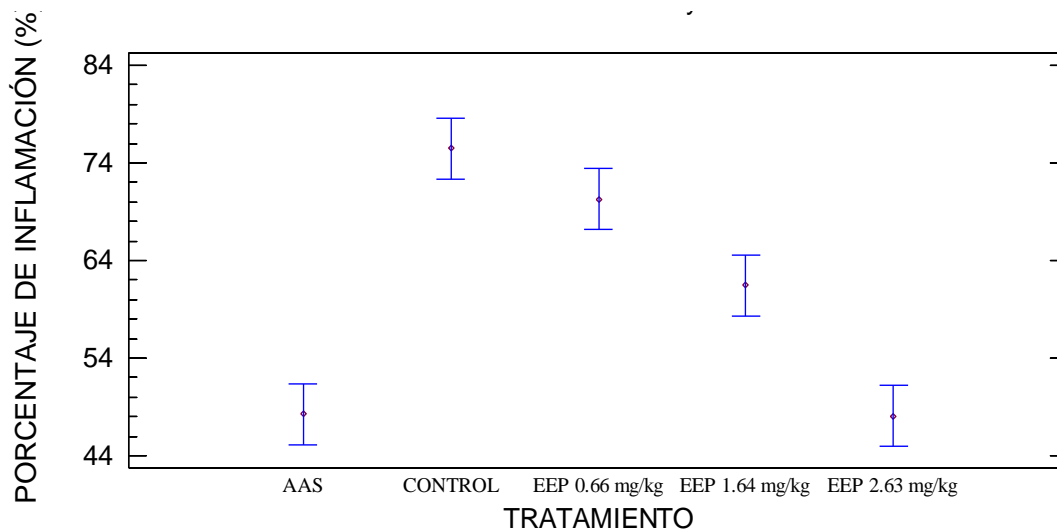
Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.16 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, seis horas después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente; también el grupo control se traslapa verticalmente con el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Se puede observar que cada vez que se incrementa la dosis de los tratamientos de extracto blando éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), este tiene un mayor efecto antiinflamatorio; pero la dosis de extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg) no tiene ningún efecto antiinflamatorio, ya que es estadísticamente igual al grupo control.

FIGURA 3.16
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL
95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN SEIS
HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

5.2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SIETE HORAS DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

Al aplicar el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido siete horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro 3.19), observamos que el cociente F es igual a 97.79. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 5 tratamientos, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son estadísticamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.20), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 3 grupos

homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. No existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg; tampoco existe diferencia entre el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg y el grupo control.

CUADRO 3.19
ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN SIETE HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P – Valor
Entre grupos	2538.5	4	634.626	97.79	0.0000
Dentro de los grupos	97.3422	15	6.48948		
Total	2635.84	19			

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

CUADRO 3.20
TEST DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN POR TIPO DE TRATAMIENTO SIETE HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO

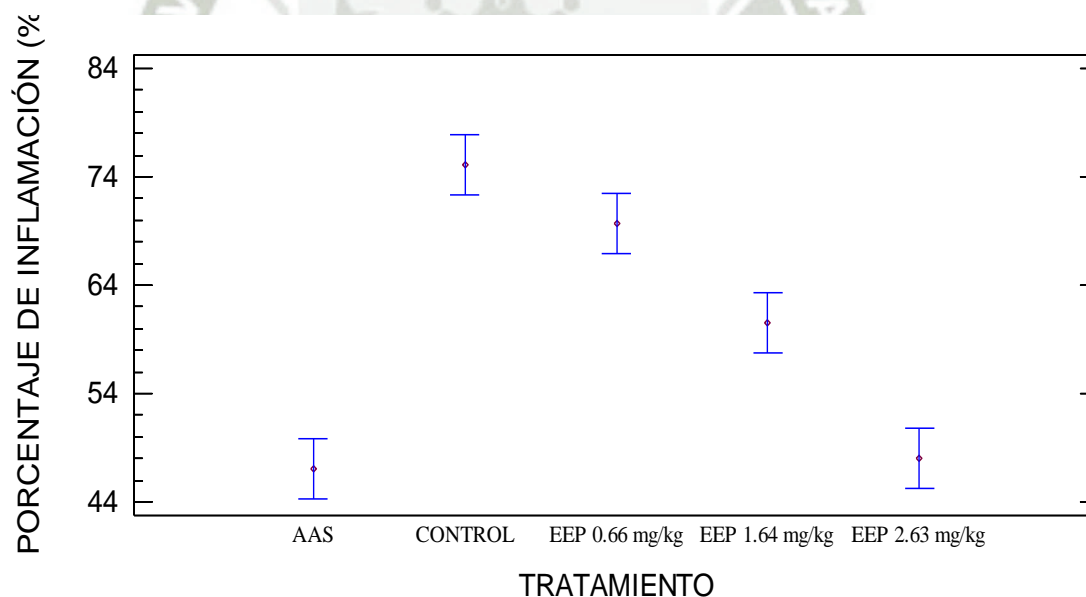
Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	4	47.01	X
E. éter de petróleo 2.63 mg/kg	4	48.0475	X
E. éter de petróleo 1.64 mg/kg	4	60.495	X
E. éter de petróleo 0.66 mg/kg	4	69.6425	X
Control	4	75.16	X

Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

La Figura 3.17 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, siete horas después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapan verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS) y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg (EEP 2.63 mg/kg) se traslapan verticalmente; también el grupo control se traslapa verticalmente con el grupo extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg (EEP 0.66 mg/kg), indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

FIGURA 3.17
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA PARA PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN SIETE HORAS DESPUÉS DEL AGENTE FLOGÓGENO



Fuente: Elaboración propia. Statgraphics Centurion.

El resultado final de la etapa experimental indica que los cinco tratamientos (control, ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg, extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg, extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg) presentan igualdad estadísticamente significativa al 95.0% de confianza, durante las tres primeras horas después de administrarse en agente flogógeno (solución de carragenina al 1%); dado que hasta este momento todos los grupos de tratamiento han sido sometidos a las mismas condiciones de experimentación.

Después de la cuarta hora se observa diferencias entre los grupos, debido a que en la tercera hora se administraron los tratamientos farmacológicos y además transcurrió el tiempo necesario para la absorción y distribución de los metabolitos y principios activos; de esta manera se evidencia igualdad estadísticamente significativa al 95.0% de confianza entre el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y extracto éter de petróleo 2.63 mg/kg.

En la investigación: “Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*)” realizada por Richard B. van Breemen, et al., determinaron que los compuestos 10-gingerol, 8-shogaol y 10-shogaol inhiben la ciclooxigenasa-2 (COX-2), lo que explicarían las propiedades antiinflamatorias del jengibre (72), además según las fuentes bibliográficas, durante el edema sub-plantar inducido por carragenina, desde las 2.5 hasta las 6 horas, serían las prostaglandinas los principales mediadores de la inflamación (62), y siendo la ciclooxigenasa una enzima responsable de la biosíntesis de prostaglandinas (73), el efecto del extracto éter de petróleo de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) se llevaría a cabo durante las 2.5 horas hasta las 6 horas de producida la inflamación, es por este motivo que se administra por vía oral las suspensiones del extracto éter de petróleo de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) después de tres horas de inducida la inflamación. Los resultados de los tratamientos con los extracto éter de petróleo de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) se pueden observar a partir de la cuarta hora de transcurrida la inflamación, ya que según las pruebas estadísticas, 2.63 mg/kg de extracto éter de petróleo de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) producen el mismo efecto antiinflamatorio que 7.15 mg/kg ácido acetilsalicílico.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvo extractos de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) por el método de extracción continua de Soxhlet, con tres solventes de diferente polaridad, utilizando éter de petróleo como solvente apolar, cloroformo como solvente medianamente polar y etanol como solvente polar. Se determinó que el extracto etanólico presenta mayor rendimiento con 11.90%, seguido del extracto clorofórmico con 6.85% y finalmente el extracto éter de petróleo con 4.60%.
2. Se determinó el extracto de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con mejor efecto antiinflamatorio mediante una prueba piloto, donde se demostró que el grupo tratado con el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) posee mejor efecto antiinflamatorio, en comparación al grupo extracto clorofórmico, extracto etanólico y control.
3. Se identificó los principales metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina del extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), entre ellos: flavonoides y terpenos; además se pudo identificar la presencia de gingerol.
4. Se evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), considerando las dosis con efecto antiinflamatorio tradicionalmente utilizadas, bajo la forma farmacéutica de suspensiones orales y demostrándose que el extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) 2.63 mg/kg posee mejor efecto antiinflamatorio, a comparación de los grupos extracto éter de petróleo 0.66 mg/kg, extracto éter de petróleo 1.64 mg/kg y el grupo control.

5. Se comparó el efecto antiinflamatorio del extracto éter de petróleo de los rizomas de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) con el ácido acetilsalicílico; evidenciándose que no existe diferencia entre el grupo extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) 2.63 mg/kg y el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg.



RECOMENDACIONES

PRIMERA:

Realizar estudios de identificación, aislamiento y cuantificación de los principales principios activos presentes en los extractos de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) que sean responsables del efecto antiinflamatorio,

SEGUNDA:

Determinar la toxicidad aguda y crónica; local y sistémica del extracto blando éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en animales de experimentación, a fin de establecer la seguridad de dichos extractos.

TERCERA:

Realizar estudios clínicos, con el objetivo de confirmar la eficacia del extracto éter de petróleo de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) 2.63 mg/kg como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria.

CUARTA:

Continuar con la investigación de otros efectos terapéuticos de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre), ya que la medicina tradicional le atribuye bastantes efectos terapéuticos como: antiemético, anticancerígeno, antiséptico y hepatoprotector.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud. Plantas medicinales. [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.ins.gob.pe/portal/jerarquia/7/107/plantas-medicinales/jer.107>.
2. Barrueco N, Martínez Fernández-Llamares C, Durán E, Martínez Marin M, Relaño García C. Sitio web de SCIELO - Index de enfermería. [Online]. [cited 2014 Junio 23. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-12962008000100012.
3. Charles DJ. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. In. New York: Springer Science+Business Media; 2012. p. 335-344.
4. Fundación Hogares Juveniles Campesinos. El milagro de las plantas. Aplicaciones medicinales o orofaríngeas. In. Bogotá: San Pablo; 2005. p. 111.
5. Nuñez Meléndez E. Plantas medicinales de Puerto Rico: folklore y fundamentos científicos. In. San Juan: Universidad de Puerto Rico; 1982. p. 27.
6. 生姜(*Sheng Jiang*). [Online]. [cited 2014 Junio 24. Available from: <http://www.bencaodao.com/>.
7. Agencia agraria de noticias. Exportaciones de jengibre crece 154%. [Online]. [cited 2014 Marzo 29. Available from: <http://www.agraria.pe/noticias/exportaciones-de-jengibre-crecen-154>.
8. Morales A. El cultivo del Jengibre. San José: Ministerio de Agricultura y Ganadería - República de Costa Rica; 2007.
9. National Tropical Botanical Garden. *Zingiber officinale*. [Online]. [cited 2014 Marzo

30. Available from: http://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=11651.
10. Mckenna DJ, Jones K, Hughes K, Tyler VM. Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements. In. New York: Routledge; 2011. p. 411-440.
 11. United States Department of Agriculture. *Zingiber officinale* Roscoe Garden ginger. [Online]. [cited 2014 Abril 03. Available from: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ZIOF>.
 12. Ravindran P, Babu K. Ginger: The genus Zingiber. In. Florida: CRC Press; 2005. p. 1-3.
 13. Jucker E. Progress in Drug Research Boston: Birkhäuser Verlag; 2001.
 14. Czygan FC, Frohne D, Hiller K, Hölzel C, Nagell A, pachaly P. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. In Wichtl M, editor.. New York: CRC Press; 2000. p. 654-656.
 15. Parthasarathy V, Chempakam B, Zacharian T. Chemistry of spices. In. United Kingdom: Biddles Ltd. King's Lynn; 2008. p. 9-16.
 16. Duke JA. CRC handbook of medicinal spices. In.: CRC Press; 2003. p. 313-322.
 17. Mekar Saptarini N, Yanti Sitorus E, Levita J. Structure-Based in Silico Study of 6-Gingerol, 6-Ghogaol, and 6-Paradol, Active Compounds of Ginger (*Zingiber officinale*) as COX-2 Inhibitors. West Java: Padjadjaran University, Faculty of Pharmacy; 2013.
 18. Al-Yahya M, Rafatullah S, Mossa J, Ageel A, Parmar N, Tariq M. Gastroprotective Activity of Ginger *Zingiber Officinale* Rosc., in Albino Rats. The American Journal

of Chinese Medicine; 1989.

19. Siddaraju M, Mysore Annaiah H. Gastroprotective Effect of Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract: Role of Gallic Acid and Cinnamic Acid in H⁺, K⁺-ATPase/H. pylori Inhibition and Anti-Oxidative Mechanism. Karnataka: Central Food Technological Research Institute, Department of Biochemistry and Nutrition; 2009. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/249487/cta/>].
20. Núñez Figueredo Y, Tillán Capó J, Carrillo Dominguez C. Efecto de un extracto oleoso de rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* (MVZ) sobre la anafilaxia pasiva cutánea y el espasmo bronquial inducido por histamina. La Habana: Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos; 2005. Report No.: versión On-line ISSN 1028-4796.
21. Phillips S, Ruggier R, Hutchinson E. *Zingiber officinale* (Ginger)—an antiemetic for day case surgery. Anaesthesia; 2007. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2044.1993.tb07188.x/abstract>].
22. Katiyar S, Agarwal R, Mukhtar H. Inhibition of Tumor Promotion in SENCAR Mouse Skin by Ethanol Extract of *Zingiber officinale* Rhizome. American Institute for Cancer Research; 1996. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/56/5/1023.short>].
23. Zancana K, Marquesb M, Petenatec A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. Elsevier Science; 2002. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089684460200013X>].

24. Iqbal Z, Nadeem QK, Khan M, Akhtar M. In Vitro Anthelmintic Activity of *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, *Curcubita mexicana* and *Ficus religiosa*. Lahore: University of Agriculture, Departments of Veterinary Parasitology, and Physiology and Pharmacology; 2001. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: http://www.fspublishers.org/published_papers/9174_.pdf.

25. Singha G. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. Food and Chemical Toxicology; 2008. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691508004110>.

26. Ojewole J. Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic effects of ethanol extract of *Zingiber officinale* (roscoe) rhizomes (zingiberaceae) in mice and rats. University of KwaZulu-Natal, Department of Pharmacology; 2006. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.1952/abstract>.

27. Atta A, Elkoly T, Mouneir S, Kamel G, Alwabel N. Hepatoprotective Effect of Methanol Extracts of *Zingiber officinale* and *Cichorium intybus*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences; 2010. Report No.: [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3116299/>.

28. Rakel D. Integrative Medicine. In. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2012. p. 456-463.

29. Pizzorno J, Murray M, Joiner-Bey H. Manual de medicina natural : toma de decisiones en la clínica. In. Barcelona: Elsevier España; 2009. p. 37.

30. Zick S, Djuric Z, Ruffin M, Litzinger A. Pharmacokinetics of 6-, 8-, 10-Gingerols and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. National

Institutes of Health Public Access; 2008.

31. European Scientific Cooperative on Phytotherapy. ESCOP Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. In. New York: Thieme Medical Publishers; 2003. p. 313-322.
32. Plengsuriyakarn T, Viyanant V, Eursitthicha V. Cytotoxicity, Toxicity, and Anticancer Activity of *Zingiber Officinale Roscoe* Against Cholangiocarcinoma. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention; 2012.
33. Gennaro AR. Remington Farmacia. In. Bueno Aires: Editorial Medica Panamericana; 2003. p. 872-874.
34. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural Barcelona: Ediciones Omega; 2000.
35. Casado Canchez EM, Duran Barquero P, Miro Arias T, Paredes de La Sal AJ. Operaciones básicas de laboratorio. In. Madrid: Paraninfo; 2012. p. 165-185.
36. Lamarque A, Zygadlo J, Labuckas D, López L, Torres M, Maestri D. Fundamentos Teóricos-Prácticos de Química Orgánica. In. Córdoba: Encuentro; 2008. p. 41-53.
37. J. Pasto D, R. Johnson C. Determinación de estructuras orgánicas. In. Barcelona: Editorial Reverte; 2003. p. 26-38.
38. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapeúticos. In. Santafé de Bogota: Area de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello; 2000. p. 157-178.
39. Hernández Herrero G, Moreno Gonzáles A, Zaragoza García F, Porras Chavarino A. Tratado de medicina farmacéutica. In. Madrid: Médica panamericana; 2011. p. 103-121.

40. Vila Jato JL, editor. Tecnología Farmacéutica. In. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 2001. p. 25-54.
41. Rojas W. Inmunología. In. Medellín: Corporación para investigaciones Biológicas; 2004. p. 79-95.
42. O'Connor A. Lo esencial en patología. In. Barcelona: Elsevier España; 2011. p. 5-16.
43. Arnaiz-Villena A, Regueiro JR, López Larrea C. Inmunología. In Corell A, Madroño A, Rivero M, Setién F, editors.. Madrid: Complutense; 1995. p. 167-176.
44. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Patología humana. In. Madrid: Elsevier España; 2003. p. 33-59.
45. Parakrama Cahndrasoma M, Cliver R. Taylor. Patología General. In Ávila Valdivieso JJ, editor.. Santafé de Bogotá: Editorial El Manual Moderno; 1998. p. 39-50.
46. Mendoza Patiño N. Farmacología médica. In. México: Médica Panamericana; 2008. p. 290-302.
47. De Ahumada Vázquez JI, Santana Falcón ML, Serrano Molina JS. Farmacología práctica para las diplomaturas en Ciencias de la Salud. In. Madrid: Diaz de Santos; 2002. p. 135-144.
48. Ministerio de Salud - Direccion General de Medicamentos Insumos y Drogas. Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales. In. Lima: SINCO; 2011. p. 58-60.
49. Sanz Berzosa I, Raigón Jiménez D, Llorens Molina JA, Llopís Castello R. Prácticas de química orgánica: experimentación y desarrollo. In. Valencia: Universidad

- Politécnica de Valencia; 2002. p. 37.
50. Patrick Adams M, Norman Holland L, Manuel Bostwick P. Farmacología para enfermería. In. Madrid: Pearson Education; 2009. p. 471-481.
 51. Duran Hortolá M. Farmacología para fisioterapeutas. In. Buena Aires: Médica panamericana; 2008. p. 129-131.
 52. Ali B, Blunden G, Tanira M, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): A review of recent research. Informe de Elsevier. Sultan Qaboos University, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy; 2007.
 53. Van Breemen R, Tao Y, Li W. Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*). Informe Elsevier. Chicago: University of Illinois College of Pharmacy, Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy; 2010.
 54. Fernández Urquiza F, Torres Fuentes M. Inflamación y plantas medicinales. 2006..
 55. Haung TC, Chung CC, Wang HY, Law CL. Formation of 6-Shogaol of Ginger Oil Under Different. Pingtung: National Pingtung University of Science and Technology, Department of Food Science; 2011.
 56. Guarnizo Franco A, Martínez Yepes P. Experimentos de Química Orgánica. In. Quindío: Elizcom; 2013. p. 65-72.
 57. Ocampo C. R, Rios V. LA, Betancur J. LA, Ocampo S. DM. Curso práctico de química orgánica: enfocado a biología y alimentos. In Escobar Velasquez LF, editor.. Caldas: Editorial Universidad de Caldas; 2008. p. 84-88.
 58. Hassan Belarbi E. Extracción y purificación del ácido icosapentanoico a partir de microalgas. Tesis doctoral. Almería: Universidad de Almería, Departamento de

Ingeniería Química; 1999.

59. Aly U, Abbas M, Taha H. Characterization of 6-Gingerol for In Vivo and In Vitro Ginger(*Zingiber officinale*) Using High Performance Liquid Chromatography. Science Publisher. Egypt: National Research Centre, Plant Biotechnology Department; 2013.
60. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Primera ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1988.
61. Panlab S.L. LE 7500 Pletismómetro Digital. Manual de instrucciones. 2000..
62. Sociedad Cubana de Farmacología. Taller nacional sobre inflamación. In ; 2001; La Habana. p. 18-20.
63. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. Journal Article. Journal of Pharmacobio-dynamics; 1981.
64. UNICEF-ECUADOR. Etnomedicina. Progresos italo-latinoamericanos. In Naranjo P, Crespo A, editors.. Quito: Sistema DocuTech; 1997. p. 49-53.
65. B. Mode E. In estadística Edpy.. Barcelona: Reverte; 2005. p. 79-92.
66. Azzimonti Renzo JC. Bioestadística aplicada a bioquímica y farmacia. Segunda ed.: Universitaria; 2003.
67. FAO (Roma). Los Carbohidratos en la nutrición humana: informe de una Consulta mixta FAO/OMS de expertos, Roma, 14-18 de abril de 1997. In.; 1999. p. 6-9.
68. Rodríguez Rivera VM. Bases de la Alimentación Humana. In. España: Netbiblo; 2008. p. 132-143.

69. Shadmani A, Azhar I, Mazhar F. Kinetic studies on *Zingiber Officinale*. Karachi: University of Karachi, Department of Pharmacognosy; 2004.
70. Ghasemzadeh A, Jaafar H, Rahmat A. Identification and concentration of some flavonoid components in Malaysian young ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) varieties by a high performance liquid chromatography method. US National Library of Medicine National Institutes of Health; 2010. Report No.: [Online]. [cited 2014 Junio 23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20877219>.
71. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica de las plantas medicinales. Segunda ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 2001.
72. Yi Tao WL, Breemen Van R. Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*). DSHEA 2010 Symposium. Chicago: Elsevier B.V.; 2010.
73. Lorenzo MG, Leza LH, Sánchez M, Pérez P, Fernández PL. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. In. Madrid: Panamericana Médica Editorial; 2008. p. 501-512.



ANEXO 01: CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



“AÑO DE LA INVERSIÓN PARA EL DESARROLLO RURAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA”

CONSTANCIA Nº 03-2014-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del rizoma presentado por la Bachiller **Liseth Paola La Torre Villalba** Egresada del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Santa María ,para la ejecución de su trabajo de Tesis : “Evaluación del efecto antiinflamatorio del “jengibre” en animales de experimentación”. La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco , procedente del supermercado de Metro para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la especie:

División : Magnoliophyta
Clase: Liliopsidae
Subclase: Zingiberidae
Orden: Zingiberales
Familia: Zingiberaceae
Género: Zingiber Bohemer
Especie: ***Zingiber officinale* Roscoe**

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen conveniente.

Arequipa 21 de Marzo del 2014


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR

Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ



**ANEXO 02: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO
PLETISMÓMETRO DIGITAL DURANTE LA ETAPA PRELIMINAR**

**CUADRO A.1
RESULTADOS DE VOLUMENES MEDIDOS EN EL EQUIPO
PLETISMOMETRO DIGITAL DURANTE LA PRUEBA PILOTO**

	N° Rat a	T0: 0.0 hrs (ml)	T1 : 1.0 hrs (ml)	T2 : 2.0 hrs (ml)	T3 : 3.0 hrs (ml)	T4 : 4.0 hrs (ml)	T5 : 5.0 hrs (ml)	T6 : 6.0 hrs (ml)	T7 : 7.0 hrs (ml)
Control	1	0.80	1.24	1.32	1.42	1.44	1.44	1.43	1.43
	2	0.85	1.33	1.43	1.50	1.53	1.53	1.53	1.52
Éter de petróleo	3	0.84	1.31	1.40	1.49	1.40	1.38	1.37	1.37
	4	0.88	1.36	1.47	1.55	1.47	1.46	1.45	1.45
Cloroformo	5	0.84	1.29	1.39	1.48	1.43	1.42	1.42	1.41
	6	0.85	1.34	1.43	1.52	1.45	1.44	1.43	1.43
Etanol	7	0.89	1.40	1.50	1.57	1.53	1.53	1.52	1.51
	8	0.89	1.38	1.48	1.58	1.53	1.52	1.52	1.51

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

**ANEXO 03: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO
PLETISMÓMETRO DIGITAL DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL**

CUADRO A.2

**RESULTADOS DE VOLUMENES MEDIDOS EN EL EQUIPO
PLETISMOMETRO DIGITAL DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL**

	N° Rata	T0: 0.0 hrs (ml)	T1 : 1.0 hrs (ml)	T2 : 2.0 hrs (ml)	T3 : 3.0 hrs (ml)	T4 : 4.0 hrs (ml)	T5 : 5.0 hrs (ml)	T6 : 6.0 hrs (ml)	T7 : 7.0 hrs (ml)
Control	1	0.64	0.98	1.06	1.12	1.14	1.14	1.12	1.12
	2	0.80	1.24	1.32	1.39	1.43	1.42	1.42	1.42
	3	0.73	1.13	1.22	1.30	1.31	1.30	1.30	1.29
	4	0.84	1.30	1.38	1.42	1.45	1.45	1.44	1.44
Ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg	5	0.80	1.25	1.33	1.40	1.27	1.23	1.20	1.18
	6	0.76	1.18	1.25	1.32	1.20	1.15	1.12	1.11
	7	0.83	1.29	1.37	1.43	1.29	1.24	1.23	1.22
	8	0.80	1.24	1.32	1.39	1.25	1.19	1.18	1.18
Éter de petróleo 0.66 mg/kg	9	0.85	1.32	1.40	1.47	1.45	1.43	1.42	1.42
	10	0.75	1.16	1.24	1.31	1.30	1.29	1.28	1.28
	11	0.85	1.29	1.39	1.47	1.47	1.46	1.45	1.44
	12	0.70	1.09	1.17	1.23	1.22	1.21	1.21	1.20
Éter de petróleo 1.64 mg/kg	13	0.76	1.17	1.25	1.33	1.26	1.20	1.18	1.18
	14	0.74	1.14	1.24	1.29	1.24	1.22	1.21	1.21
	15	0.72	1.13	1.19	1.26	1.20	1.18	1.18	1.17
	16	0.84	1.30	1.39	1.46	1.39	1.37	1.37	1.35
Éter de petróleo 2.63 mg/kg	17	0.82	1.27	1.38	1.44	1.32	1.24	1.22	1.22
	18	0.80	1.27	1.36	1.40	1.28	1.22	1.20	1.20
	19	0.85	1.30	1.39	1.48	1.36	1.28	1.27	1.27
	20	0.75	1.15	1.21	1.29	1.18	1.10	1.08	1.08

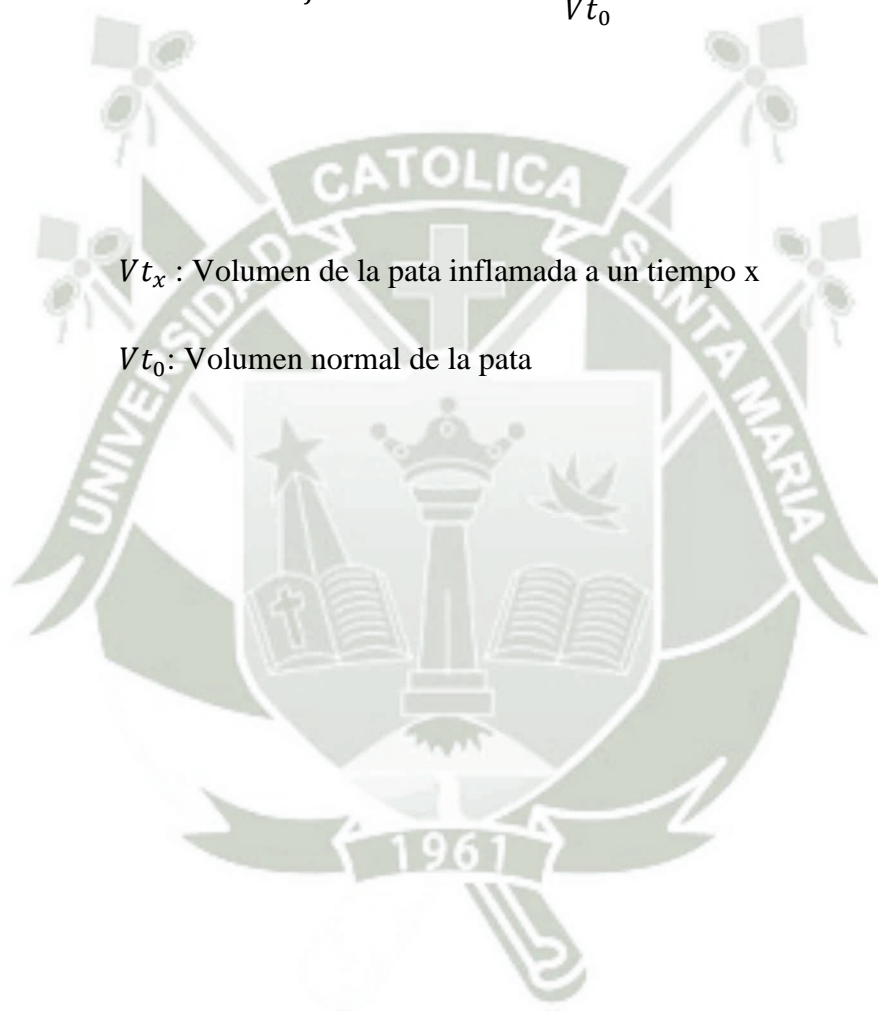
Fuente: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

ANEXO 04: FÓRMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN.

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{(V_{t_x} - V_{t_0})}{V_{t_0}} \times 100$$

V_{t_x} : Volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V_{t_0} : Volumen normal de la pata



ANEXO N° 05: PROCEDIMIENTO DE LA PARTE EXPERIMENTAL

1. RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

1.1. RECOLECCIÓN

FIGURA A.1

RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE).



1.2. SELECCIÓN

FIGURA A.2

LAVADO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE).



FIGURA A.3

PELADO DEL RIZOMA DE *Zingiber Officinale Roscoe* (JENGIBRE).



FIGURA A.4

CORTADO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE).



1.3. DESECACIÓN

FIGURA A.5

DESECADO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE).



1.4. PULVERIZACIÓN

FIGURA A.6

MOLIENDA DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE).



2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

FIGURA A.7

**OBTENCIÓN DE EXTRACTO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE) POR EL MÉTODO DE SOXHLET.**

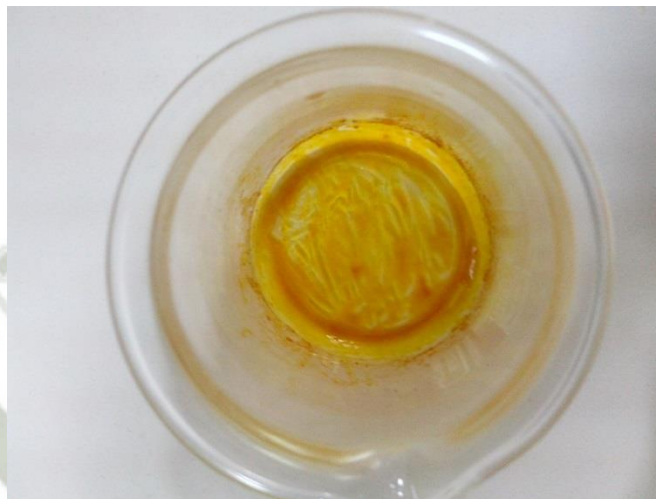


FIGURA A.8

**LÍQUIDO EXTRACTIVO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE)**



FIGURA A.9
EXTRACTO BLANDO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE)



3. ETAPA PRELIMINAR-PRUEBA PILOTO

FIGURA A.10
SUSPENSIONES DE LOS EXTRACTOS DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe*
(JENGIBRE) PARA LA ETAPA PRELIMINAR (CONTROL NEGATIVO
- EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO - EXTRACTO CLOROFÓRMICO.
EXTRACTO ETANÓLICO)



4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

FIGURA A.11

ELUCIÓN DEL EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO DEL RIZOMA DE *Zingiber officinale Roscoe* (JENGIBRE) EN LA PLACA DE SÍLICA GEL.



FIGURA A.12
CÁMARA DE LUZ UV.



5. FORMULACIÓN DE LA SUSPENSIÓN

FIGURA A.13

**SUSPENSIONES DEL EXTRACTO ÉTER DE PETRÓLEO DEL RIZOMA DE
Zingiber officinale Roscoe (JENGIBRE) PARA LA ETAPA EXPERIMENTAL
(0.66 mg/kg-1.64 mg/kg-2.63 mg/kg)**



6. ETAPA EXPERIMENTAL-EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

6.1. MEDICIÓN DEL GRADO DE INFLAMACIÓN EN RATAS

FIGURA A.14

EQUIPO PLETISMÓMETRO DIGITAL LE 7500



7. INDUCCIÓN DE INFLAMACIÓN EN RATAS

FIGURA A.15

**INFLAMACIÓN PRODUCIDA CUATRO HORAS DESPUÉS DE
ADMINISTRADO EL AGENTE FLOGOGENO (GRUPO CONTROL)**



FIGURA A.16

**INFLAMACIÓN PRODUCIDA CUATRO HORAS DESPUÉS DE
ADMINISTRADO EL AGENTE FLOGOGENO (GRUPO ÁCIDO
ACETILSALICÍLICO)**



FIGURA A.17
INFLAMACIÓN PRODUCIDA CUATRO HORAS DESPUÉS DE
ADMINISTRADO EL AGENTE FLOGOGENO (GRUPO EXTRACTO ETER
DE PETROLEO 2.63 mg/kg)

