

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
DE *Crescentia alata* HBK (morro)



INFORME DE TESIS

Presentado por
Dora Lizeth Solís Morales de Díaz

Para optar al Título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Guatemala, noviembre de 1,998

OK
T. 11-11-20
2011

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS Y FARMACIA**

DECANA	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
VOCAL II	Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
VOCAL III	Lic. Rodrigo Herrera San José
VOCAL IV	Br. Herberth Raul Arévalo Alvarado
VOCAL V	Br. Manola Anleu Fortuny

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Te amo mi Padre Celestial sin tu Ayuda este logro en mi vida jamás hubiera podido ser, te lo agradezco en el nombre de JESUS que es sobre todo nombre y mi Amigo fiel que nunca me falló y nunca me fallará.

A MIS PADRES

Manuel Solís y María Candelaria de Solís, por su apoyo incondicional, sus oraciones, su motivación constante y por confiar en que yo podría lograr llegar a la meta. GRACIAS

A MI ESPOSO

Jaime Fernando Díaz del Valle . Su comprensión, su amor, su apoyo incondicional en todo sentido, su sostén, sus oraciones, etc. GRACIAS.

A MIS HIJOS

Fernando y Pamela Díaz Solís. Ustedes han sido, son y serán la bendición mas grande que Dios me dio y la razón por la que a pesar de todas las adversidades me motivaron a luchar siempre para llegar a la meta. Los AMO.

A MIS HERMANOS

Jonathan y Blandina Solís Morales con amor fraternal.

A MIS SOBRINOS

Paola, Estephany Manuel David y Jonathan Daniel. Con cariño especial.

A MI CUÑADO

Wilder Cifuentes, con cariño

A MI SUEGRA

Hortencia del Valle de Díaz , con cariño.

A MIS FAMILIARES

Fam. Azzari Díaz, Fam. Granados Díaz, Fam. Díaz Ovando, Fam. Corado Díaz, Fam. Díaz Durán, Fam. Díaz Samayoa. Especialmente a Zoily Díaz de Azzari.

A MIS PROFESORES

Especialmente a Licda. Miriam Velarde, Licda.Hada Alvarado, Alba Nory de Barrera, Eleonara Gaitán y Smirna Velásquez. Por sus consejos, motivación y su afecto.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

En especial a :Win Aviles, Caren Corea, Iris Aidé García, Lissette Madariaga, Reina Cornel, Claudia Fuentes, Julieta Guerra, Edgar Cortez y Virna.

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Marta Inés Reyes Mayén por su asesoría en el presente trabajo de investigación.

A la Dra. Amarilis Saravia y Licenciados: Lissette Madariaga, Mynor Hernández, Raquel Pérez, Beatriz Medinilla y Luis Hugo Santa Cruz por su colaboración en el presente trabajo de investigación

Al Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por dar las facilidades para realizar la fase experimental de la investigación.

A todas las personas que contribuyeron, en alguna manera en la ejecución de ésta tesis.

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	3
4. JUSTIFICACIÓN	7
5. OBJETIVOS	8
6. HIPÓTESIS	9
7. MATERIALES Y MÉTODOS	10
8. RESULTADOS	18
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
10. CONCLUSIONES	48
11. RECOMENDACIONES	49
12. REFERENCIAS	50
13. ANEXOS	53

1. RESUMEN

El presente estudio fué realizado con el propósito de evaluar la actividad antiinflamatoria de extractos Metanólico, Hexánico, Acuoso, Clorofórmico y Cloroformo-Metanólico de *Crescentia alata* HBK (morro), como un estudio farmacológico fase II.

Los extractos se prepararon según la metodología de Ciulei (1), la actividad antiinflamatoria de los extractos se evaluó por medio de la inducción de edema en la región subplantar de la pata derecha del ratón, propuesta por Winter y col. y modificada por Sugishita (2,3). El tamizaje fitoquímico se realizó por medio de pruebas convencionales propuestas por Ciulei (1), Medinilla, B., y otros autores (4). Para garantizar que los ensayos no son tóxicos a las dosis investigadas se llevó a cabo el ensayo de toxicidad aguda.

En los resultados obtenidos en la extracción se pudo determinar que de los extractos Acuoso y Hexánico no se obtuvo una cantidad significativa del principio activo por lo que sólo se evaluó actividad antiinflamatoria a los extractos: Metanólico, Clorofórmico y Cloroformo-Metanólico, de los cuales el extracto Metanólico presenta actividad antiinflamatoria a dosis de 201, 175 y 152 mg/Kg de peso, el extracto Clorofórmico tiene actividad solo a 201 mg/Kg de peso y el Cloroformo-Metanólico a 201 y 175 mg/Kg de peso. Las dosis de 132, 115 y 100 mg/Kg de peso no presentaron actividad antiinflamatoria.

Con los datos obtenidos se elaboró una curva de porcentaje de inflamación versus tiempo, para hacer el análisis estadístico de la actividad antiinflamatoria, para lo cual se calculó mediante integración numérica el área bajo la curva como variable de respuesta. Con las áreas obtenidas para cada tratamiento, se realizó la prueba de ANDEVA de dos vías y al establecer diferencia entre los tratamientos, se realizó la prueba de Dunnett, para evaluar el efecto antiinflamatorio de los tratamientos frente al control negativo. Nivel de significancia ($p < 0.05$)

Se evaluó la toxicidad aguda a concentraciones de 250, 350 y 450 mg/Kg de peso del extracto Metanólico, que fue el que presentó mejor respuesta antiinflamatoria, no mostrando a esas concentraciones ninguna toxicidad.

En cuanto a los resultados que presenta el tamizaje fitoquímico se presume la presencia de Taninos de tipo catecol, saponinas y flavonoides tipo Naftoflavonas y Morinas.

2. INTRODUCCIÓN

La población guatemalteca, acude frecuentemente a la utilización de la medicina natural como su recurso más próximo, debido a la crítica situación económica que actualmente la mayoría de la población enfrenta. A medida que las han ido utilizando, es mayor la cantidad de personas que cada día confía más en tratamientos naturales. Por lo tanto, se cuenta con una variedad de plantas utilizadas en el tratamiento de varias afecciones, por lo que son buenas razones para validar científicamente las propiedades terapéuticas atribuidas a dichas plantas, para que se puedan utilizar adecuadamente y con seguridad entre las personas.

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos Metanólico, Etanólico, Acuoso, Clorofórmico y Cloroformo-Metanólico de las hojas de *Crescentia alata* (morro), como un estudio farmacológico de Fase II. (Fase I (5)).

Los extractos fueron preparados por la maceración de las hojas secas y molidas de *Crescentia alata* con cada solvente. La actividad antiinflamatoria de dichos extractos se evaluaron por medio de la inducción de edema en la región subplantar de la pata derecha del ratón, propuesta por Winter y col. y modificada por Sugishita. (2, 3). Al grupo utilizado como referencia se le administró fenilbutazona por vía oral, como fármaco de referencia y a un grupo adicional se le administró el vehículo vía oral en el que formularán los extractos, éste último fué el grupo control. Es conveniente determinar experimentalmente, por medio de la extracción de fases con solventes de diferentes polaridades, cuál es el que posee el efecto antiinflamatorio.

Efectuados los tratamientos, se procedió a evaluar el edema producido a los ratones durante 5 horas en el pletismómetro digital, en donde finalmente se realizó un análisis estadístico con el método de "ANDEVA" de dos vías, que estimó las diferencias significativas entre los tratamientos. Se evaluó la Dosis Letal (DL 50) con el extracto Metanólico, de las hojas de *Crescentia alata* y se realizó además un tamizaje fitoquímico.

3. ANTECEDENTES

Se encontró la siguiente información en la revisión bibliográfica:

El nombre científico del morro es *Crescentia alata* HBK (6-16) (Ver anexo No. 1). Dentro del los nombres comunes estan: morro, morrito, cutuco, jícaro, jícaro sabanero, cuchara, guacal ,raspaguacal, cirian, guiro. (7,8,16,23).

Es un árbol muy común o abundante en planicies y laderas esencialmente secas(bosque seco subtropical, monte espinoso subtropical), es nativo y se encuentra silvestre en la región nororiental de Guatemala (El progreso, Zacapa, Chiquimula, Baja Verapaz, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa), se le encuentra tambien en México, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Brasil. Introducido hacia las Filipinas y otras islas del Pacífico. (8,9,10,16).

Se ha reportado que los constituyentes fitoquímicos de *Crescentia alata* son: en hojas: Alcaloides, en corteza: Flavonoides-Alcaloides-Taninos, en raíz: Alacaloides y en receta folklórica: Alcaloides-Flavonoides-Taninos. (7, 22)

Sus frutos se usan en medicina doméstica contra resfríos; hervidos solos o con panela y enfriada el agua en decocción, se bebe por copas dos a tres veces al día contra la tos y solamente molidos con azúcar se da la horchata para aliviar la tos ferina; la pulpa del morro en cocimiento, tomando un vaso diario por varios días, es tomado para los golpes.

El cocimiento de 15 gramos de hoja por 100 gramos de agua, tomando de una a dos tazas alivian la enteritis.

Para las quemaduras, se machaca un fruto tierno y es aplicado en forma de cataplasma a las partes afectadas.

Una cuarta de cáscara del tronco se pone a cocer con agua hasta que hierva y esta agua se toma durante el último mes del embarazo, para facilitar el parto y como laxante.

El cocimiento de hojas de morro tomando de dos a tres tazas alivian la inflamación. (5,7,9,10,).

Una infusión de hojas puede darse para combatir la disentería. (17)
En México los extractos de *Crescentia alata* con actividad antimicrobiana no está especificada. (21).

La cáscara de la fruta madura se usa en Nicaragua para algunos desórdenes femeninos. (23).

Dentro de sus usos comestibles el morro ha sido utilizado principalmente en la elaboración de dulces, utilizando cuatro morros, una panela dulce, canela, dos litros de agua y puestas al fuego, luego se fabrican bolitas y se envuelven en papel de china.

En diversos países Centroamericanos, se elaboran bebidas y refrescos utilizando la almendra de la semilla del morro, ya sea cruda o ligeramente tostada asociada con arroz y canela, se muelen dando como resultado, una pasta que batida en agua azucarada, se obtiene una horchata de sabor y olor agradable, siendo su contenido nutricional en base seca de 8.8% de grasa, 8.6% de proteína y 4.2% de fibra cruda.

Su valor nutricional de 100 gramos de una porción comestible (semilla) está compuesta por calorías, proteínas, grasa, hidratos de carbono, fibra, calcio, fósforo, hierro, vitamina A, tiamina, rivotravina, niacina, aminoácidos.

La ausencia de toxicidad y su calidad proteínica, hacen de la harina de morro, una gran posibilidad para el consumo humano para ser utilizado en fórmulas de alto contenido proteico. El aceite también exento de factores tóxicos y de agradable apariencia, permitiría utilizarlo para consumo humano ya que su digestibilidad es de casi 100%.

El morro es encontrado frecuentemente en pasturas con doble propósito: para sombra y para que sus frutos sean comidos por el ganado. Se encuentran plantados en cercos vivos y sus frutos son utilizados, algunas veces como recipientes de agua (guacales). (5,9,10,12,13,19).

Dentro de los estudios que se han realizado, se han reconocido seis especies silvestres de *Crescentia* pero dos son de importancia artesanal y medicinal: *Crescentia alata* HBK (Morro) y *Crescentia cujete*. (6)
Cáceres A. demostró en 1,996 que la especie de *Crescentia cujete* tiene actividad antiinflamatoria entre otras propiedades medicinales.

A las hojas y al fruto se le atribuye propiedad analgésica, atiséptica, aperitiva, astringente, calmante, desinflamante, emenagoga, emética, emoliente, espectorante, febrífuga, laxante, pectoral, purgante, reconstituyente, sudorífica, vermífuga y vulneraria.

Estudios farmacológicos demuestran que las hojas tienen actividad sedante. En modelos experimentales se ha demostrado que el extracto etanólico de hojas de *Crescentia cujete*, tiene actividad antiinflamatoria en el modelo de inflamación podal por formaldehído a dosis de 1,200 mg/kg por vía oral; la hoja tiene actividad con relación dosis-efecto, la actividad se mantiene por 24 horas en forma comparable con 100 mg de diclofenaco sódico. En otro estudio al inducir la inflamación con caolín y comparar las medias por el método de LSD de Fisher, la dosis de 750 mg/kg presenta una diferencia significativa con el control y con fenilbutazona, lo que confirma su actividad.

Por su actividad antibacteriana y antiinflamatoria, el uso tópico de las hojas está indicado en dermatitis, hemorroides y otras afecciones de la piel. (9)

Germosen, en 1,995 en Santo Domingo encontró que la presencia de los flavonoides, quercetina y apigenina en la hoja, le confiere a sus extractos actividad antiinflamatoria y analgésica.

Su extracto acuoso, en infusión mostró actividad antiinflamatoria en el modelo de edema de la pata de la rata inducido por carragenina, a la dosis de 750 mg/kg.

La búsqueda de la actividad antiinflamatoria de *Crescentia cujete*, se efectuó en la rata luego de una inyección subcutánea de 0.1 ml de formaldehído a 3.5% en una pata trasera del animal. El diclofenaco sódico (100 mg/kg) administrado por vía intramuscular se utilizó como sustancia de referencia. Los experimentos se realizaron a partir de un extracto etanólico a 80% de hoja y las dosis se expresan en mg de planta seca.

A dosis iguales y superiores a 1,200 mg/kg, por vía oral, el extracto etanólico (80%) de la hoja muestra una neta actividad antiinflamatoria.

La planta está conocida por la Farmacopea Francesa, IX edición. (18)

No se ha comprobado científicamente en nuestro país que las hojas de la especie *Crescentia alata* posea actividad antiinflamatoria como las mencionadas anteriormente para *Crescentia cujete*.

En 1,996 el proyecto de actividad antiinflamatoria de plantas medicinales de uso popular en Guatemala (USAC-DIGI) informó que las infusiones de las hojas de *Crescentia alata* poseen actividad antiinflamatoria.(5).

Otras partes de la planta que han sido estudiadas son las semillas. En 1,980 José Wester del Cid determinó las características químicas y nutricionales del aceite de la semilla, encontrándose un alto contenido nutricional. Un estudio similar se realizó en Nicaragua en 1,988 por Mendieta Silva. (12,13).

Los usos medicinales reportados en Honduras son: tos, dolor de estomago, disentería y asma, siendo las partes de la planta utilizadas la semilla y el fruto. Una infusión de las hojas puede utilizarse para combatir la disentería.

El extracto de la hoja presenta actividad antibiótica sobre *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*. (11,17)

4. JUSTIFICACIÓN

La OMS estima que el 80% de la población, de los países en desarrollo, confían en los remedios tradicionales, para atender a sus necesidades básicas y declaró en Alma Ata, (1977), que para el año 2,000, los países en el mundo deben emplear en los problemas de salud, plantas medicinales. Guatemala no es la excepción, ya que a ésto se une la crisis económica por la que está atravesando cada vez más nuestro país, lo cual hace casi imposible que nuestra población tenga acceso a comprar medicamentos, acudiendo al consumo de remedios tradicionales.

Se ha confirmado que las hojas de la especie *Crescentia cujete* tiene actividad antiinflamatoria por lo que es importante investigar si las hojas de la especie de *Crescentia alata* poseen también esta actividad para que pueda estar al alcance de mayor cantidad de población guatemalteca.

Considerando la importancia de este recurso natural para la salud en general, fué necesario validar científicamente la actividad antiinflamatoria de *Crescentia alata* (morro).

Las infusiones de la hoja de *Crescentia alata* HBK, se utilizan popularmente por su actividad antiinflamatoria . Trabajos realizados anteriormente en Guatemala por la Dirección General de Investigación (DIGI), de la Universidad de San Carlos de Guatemala, han demostrado científicamente un efecto antiinflamatorio. Por lo anteriormente expuesto se hizo indispensable realizar extracciones de la hoja de la planta, a diferentes polaridades, en donde se extrajeron los compuestos apolares, de polaridad intermedia y polares y así determinar qué porción es la responsable del efecto antiinflamatorio en ratones albinos.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERALES:

- 5.1.1 Contribuir con el desarrollo de la Farmacología experimental en la medicina natural de Guatemala, proporcionando las bases científicas necesarias para el uso adecuado de plantas medicinales.
- 5.1.2 Proporcionar información que sirva como base para investigaciones futuras, sobre plantas medicinales con actividad antiinflamatoria.
- 5.1.3 Continuar con las investigaciones iniciadas en el estudio de *Crescentia alata* HBK, para complementar dichas investigaciones.

5.2 ESPECÍFICOS:

- 5.2.1 Evaluar el extracto que presente mejor respuesta antiinflamatoria de *Crescentia alata* HBK (morro), utilizado en análisis farmacológico.
- 5.2.2. Determinar la dosis letal Media (DL 50) de el o los extractos crudos de *Crescentia alata* HBK (morro), responsables de la actividad antiinflamatoria.
- 5.2.3 Identificar por medio de pruebas químicas, él o los grupos fitoquímicos presentes en el extracto de *Crescentia alata* HBK (morro), que posea la mayor actividad antiinflamatoria demostrable.

6. HIPÓTESIS

Uno o varios de los extractos de hoja de *Crescentia alata* (morro) posee actividad antiinflamatoria significativa, demostrable in vivo en ratones albinos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de trabajo:

Extractos Metanólico, Hexánico, Acuoso, Clorofórmico, Cloroformo-Metanólico de la hoja de *Crescentia Alata* HBK (morro) y ratones albinos (hembras).

7.2 Medios:

7.2.1 Recursos humanos:

- M.E.P.U. Dora Lizeth Solís Morales de Díaz, Autora.
- Licda. Marta Ines Reyes Mayen, Asesora.

7.2.2 Recursos Materiales:

- Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Material y equipo de laboratorio.
- Pletismómetro digital Ugo Basile, modelo 56288.
- Ratones albinos hembras (sujetos experimentales) de 20-25 g de peso.
- Reactivos químicos.
- Fármaco antiinflamatorio (Fenilbutazona).
- Solventes para la extracción (cloroformo, etanol, agua, metanol y cloroformo-metanol).
- Solución de Pletismómetro (24) (Ver anexo No. 5).
- Jeringas de 1 ml.
- Sondas orogástricas.
- Suspensión de Caolín USP al 1%.

7.3 Procedimiento:

7.3.1 Revisión bibliográfica.

7.3.2 Recolección de las hojas de *Crescentia alata* (morro).

7.3.3 Secado de la planta (hoja) por secado indirecto al sol, utilizando sólo el calor del sol, sin exponer al material vegetal a la luz solar, cubriéndolo con cartones.

7.3.4 **Molienda de la planta:** utilizando tijeras para cortar material vegetal, las hojas secas se reducirán de tamaño, luego se pasarán por un molino de aspas para disminuir el tamaño de las partículas.

7.3.5 Obtención de los extractos:

- 7.3.5.1 Obtención del extracto Metanólico:** Se colocaron 932g del material vegetal seco y molido en el soxhlet con Metanol como solvente y se extrajo por varios días, luego de ésto el solvente fué llevado hasta sequedad en un rotavapor. El residuo totalmente seco se pesó y se preparó la suspensión que fué evaluada.
- 7.3.5.2 Obtención del extracto acuoso:** el residuo del material vegetal del extracto Metanólico, se colocó en maceración por varios días con agua desmineralizada como solvente, el cual fué llevado a sequedad en un rotavapor. El residuo totalmente seco se pesó.
- 7.3.5.3 Obtención del extracto Hexánico:** el residuo del material vegetal del extracto acuoso, se colocó en maceración por varios días con Hexano como solvente, el cual fué llevado a sequedad en un rotavapor. El residuo totalmente seco se pesó.
- 7.3.5.4 Obtención del extracto Clorofórmico:** el residuo del material vegetal del residuo Hexánico, se colocó en maceración por varios días con Cloroformo como solvente, el cual fué llevado a sequedad en un rotavapor. El residuo totalmente seco se pesó y se preparó la suspensión que fué evaluada.
- 7.3.5.5 Obtención del extracto Cloroformo-Metanólico:** el residuo del material vegetal del residuo Clorofórmico, se colocó en maceración por varios días con Cloroformo-Metanol (9:1), como solvente el cual fué llevado a sequedad por un rotavapor. El residuo totalmente seco se peso. Por último se preparó la suspensión que fué evaluada.
- 7.3.6 Ensayo Farmacológico:** El método utilizado para determinar la acción antiinflamatoria fué el método descrito por Winter y colaboradores, modificado por Sugishita y colaboradores (2,3).
Principio: El edema fué provocado en el ratón albino (hembra) por una inyección subplantar en la pata posterior derecha de una suspensión de caolín. El porcentaje de inhibición de la inflamación fué evaluado a 1,3 y 5 horas después del inicio del experimento por pletismografía.
Procedimiento: Se utilizaron ratones albinos hembras (raza Swiss) de un peso aproximado de 20 a 25 g, se dividieron en 5 lotes de 4 ratones cada uno; se utilizó suspensión de caolín al 1%, fenilbutazona como fármaco de referencia a dosis de 80 mg/kg de peso (26,27). Los grupos de 4 ratones comprendieron el grupo control, el fármaco de referencia y 3 grupos de dosis diferentes del extracto de la hoja de *Crescentia alata* HBK (morro) que fueron las siguientes: 100, 115, 132, 152, 175 y 201 mg/Kg de peso.
Al tiempo 0 se administró el fármaco de referencia al respectivo grupo, al control se le administró solamente el vehículo en el cual se

formularon los extractos y a los 3 grupos restantes se les administró oralmente las diferentes dosis de extracto. Se midió el volumen de la pata posterior derecha de cada uno de los animales de los lotes en el Pletismómetro de agua (Letica). A los 30 minutos se les aplicaron a todos los grupos de animales 0.05 ml de caolín al 1% en la oponeuosis plantar de la pata posterior derecha. El edema producido se cuantificó por medio del pletismómetro digital, midiendo el volumen de la pata de todos los animales a 1, 3 y 5 horas de la aplicación de la inyección. El porcentaje de inflamación para cada tratamiento a distintos tiempos se calculó según la fórmula :

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{V_{fx} - V_o}{V_o} \times 100$$

V_{fx} = Volumen después de 1, 3, o 5 horas de la inyección.

V_o = Volumen normal de la pata de ratón (inicial).

Si el porcentaje de inflamación por efecto del extracto de la hoja en estudio es significativamente menor que el control, se puede decir que los extractos tienen propiedad antiinflamatoria. El porcentaje del grupo que fué tratado con fenilbutazona permitió estimar la efectividad antiinflamatoria de la planta en estudio.

7.3.7 Ensayo Toxicológico, Método de Spearman y Karber (28): Se determinó la Dosis Letal Media (DL 50) al extracto que presentó el efecto antiinflamatorio significativo comparado con el fámaco de referencia. El ensayo preliminar se trabajó con ratones albinos, con un peso aproximado de 20 a 30 g procedentes de una misma camada e igual número de hembras y machos. La alimentación fué idéntica para todos los sujetos experimentales. La substancia a ensayar se administró por vía oral, observándose estrictamente durante un período de 24 horas,(29) esperando hasta 8 días despues de la admisntración para observar si se daba la muerte de algún animal.

En el ensayo definitivo, se evaluaron dosis diferentes que fueron 250, 350 y 450 mg/Kg de peso, observándose el comportamiento de los ratones, peso y número de animales muertos. La muerte puede manifestarse a las 1, 2, 4, 6, 24, 48 horas y un máximo de 8 días o bien morir instantáneamente o pocos minutos despues de administrar la dosis.

Los signos precursores de muerte pueden ser temblores, sialorrea, sudores, espasmos respiratorios, convulsiones, etc. Para obtener los resultados de la toxicidad de extracto, se aplica la fórmula de Karber y Behrens:

$$DL\ 50 = Df - (a \times b) / n$$

en donde:

- a = Suma de muertos de lotes consecutivos / 2
- b = diferencia entre las 2 dosis consecutivas
- Df = primera dosis que mata a todos los animales
- n = número de animales por lote.

7.3.8. Caracterización Fitoquímica: se realizará un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei, Medinilla B., y otros autores, para la investigación de metabolitos secundarios. Se utilizaron también técnicas cromatográficas (CCF) convencionales para la caracterización fitoquímica preliminar, esto se llevó a cabo al extracto Metanólico que fué el que presentó mejor respuesta antiinflamatoria.

7.3.8.1 Ensayo macro y semimicro:

6.3.8.1.1 Investigación de Taninos: 1 g de extracto reconcentrado se disolvió en 20 ml de agua desmineralizada caliente y la suspensión obtenida se filtró. Al filtrado obtenido se le agregaron 4 gotas de solución de NaCl al 10% y se filtró nuevamente. El filtrado obtenido se dividió en 4 tubos de ensayo, en donde se realizaron las siguientes pruebas:

- Al tubo No. 1 no se le agregó reactivo (tubo control)
- Al tubo No. 2 se le agregaron 5 gotas de gelatina al 1% .
- Al tubo No. 3 se le agregaron 5 gotas del reactivo de NaCl-gelatina.
- Al tubo No. 4 se le agregaron 3 gotas de Fe Cl₃ al 10% .

Luego de esto se observó durante una hora cambios de coloración, turbidez o formación de precipitados.

7.3.8.1.2 Investigación de Alcaloides: Con solución de hidróxido de amonio al 10% (2 gotas) se trató 1 g del extracto al que luego se le añadieron 25 ml de metanol al 65 oC. Se filtró y el filtrado se acidificó con HCl 2 N. La solución resultante se dividió en 4 tubos de ensayo y se evaluaron de la siguiente manera:

- Al Tubo No. 1 no se le agrega reactivo (tubo control)
- AL tubo No. 2 se le agregan 5 gotas del reactivo de Dragendorff.
- Al tubo No. 3 se le agregaron 5 gotas del reactivo de Mayer.
- Al tubo No. 4 se le agregaron 5 gotas del reactivo de Wagner.

Se corrieron además controles positivos con soluciones al 1 % de Atropina y Papaverina, luego durante 2 horas se observó si existían cambios de turbidez o precipitación de complejos en los tubos.

7.3.8.1.3 Investigación de Flavonoides: 5 g del extracto se hidrolizaron con HCl 2 N mediante reflujo y calentamiento por media hora. El extracto hidrolizado se partió con dietileter y se tomó la fase etérica (4 ml), se reconcentró a sequedad, se disolvió con etanol al 80% y se disolvió en 4 tubos de ensayo, a los tubos de les efectuó lo siguiente:

- Al tubo No. 1 no se le agrega reactivo (tubo control).
- Al tubo No. 2 se le agrega magnesio metálico y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado.
- Al tubo No. 3 se le agregan 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- Al tubo No. 4 se le gregan 3 gotas de FeCl₃ al 10 %.
- Se evaluaron reacciones y cambios de coloración comparados con el testigo.

7.3.8.1.4 Investigación de saponinas: Test de Espuma.

- Pesar 100 mg del extracto y colocarlo en un tubo de ensayo. Para comparar utilizar 2 tubos control: a) 2 ml de control de saponinas (preparación: disolver 250 mg de estándar de

saponinas en 50 ml de agua). b) 2ml de agua destilada.

- Añadir 10 ml de agua destilada a cada tubo. Calentar en baño de maría durante 30 minutos.
- Enfriar, tapar y agitar vigorosamente durante 30 a 40 segundos. Dejar reposar los tubos durante media hora. Si luego de transcurrido ese tiempo se observa una capa de espuma mayor de 3 cm en la superficie del líquido, se presume que la muestra contiene saponinas.

7.3.8.2 Tamizaje preliminar por cromatografía:

7.3.8.2.1 Tamizaje por cromatografía en capa fina. Fueron corridas en placas de Sílica fel F-254, utilizándose como fase móvil una mezcla de butanol-ácido acético-agua, en una proporción de (30:6:3) para Alcaloides, de (20:25:5) para Flavonoides y de (25:5:20) para Saponinas.

Se corrieron 6 placas y fueron visualizadas por medios físicos y químicos.

7.3.8.2.1.1 Medios físicos: Las placas serán visualizadas con LUV a 254 y 365 nm.

7.3.8.2.1.2 Cromógenos químicos: Se utilizaron 3 agentes cromógenos para visualizar los diferentes grupos de metabolitos. Los agentes cromógenos utilizados fueron: Dragendorff, Reactivo de Productos naturales y Liebermann-Burchard (LB). Se corrieron estándares de alcaloides, flavonoides y saponinas.

7.4 Diseño experimental: el diseño a utilizar fué uno de bloques completos aleatorios con 5 tratamientos.

7.4.1 Las dosis de cada extracto a ensayar correspondió a una progresión geométrica con una razón de progresión igual a 1.15 redondeado al número entero más próximo que fueron los siguientes:

VALOR REAL	VALOR REDONDEADO AL ENTERO más PRÓXIMO
100.00	100
115.00	115
132.25	132
152.09	152
174.90	175
201.14	201

Se trata que éstas dosis tengan la mayor equivalencia con las dosis ensayadas en infusión y que presenten actividad antiinflamatoria a 750 y 1000 mg/Kg de peso de hoja de *Crescentia alata* HBK.

7.4.2 Integración del diseño:

7.4.2.1 Tratamientos:

- 7.4.2.1.1 Control negativo (grupo control)
- 7.4.2.1.2 Control positivo (grupo de fármaco de referencia)
- 7.4.2.1.3 Grupo de extracto Metanólico a dosis n.
- 7.4.2.1.4 Grupo de extracto Clorofórmico a dosis n
- 7.4.2.1.5 Grupo de extracto Metanólico-Clorofórmico

En donde n = 1,2,3,4,5,6 dosis que se van a ensayar, lo que implica que el modelo se repetirá 6 veces.

7.4.2.2 Bloques: Los tratamientos se evaluarán en 3 días diferentes y cada día constituirá un bloque de diseño, lo que implica que existirán tres bloques en total (día 1, día 2, día 3 = bloque 1, bloque 2, bloque 3).

7.4.2.3 Repeticiones por tratamiento (nj): para valores de $\alpha = 0.05$ y $\beta = 0.2$ de tiene un nivel de confianza (NC) igual a:

$$NC = Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}$$

$$NC = 2.58 + 0.842$$

$$NC = 3.442$$

Lo que implica que el número de ensayos a realizar por tratamiento (n_j) debería ser mayor o igual a

$$\frac{2 NC^2 \sigma^2}{\Lambda^2}$$

donde se desconoce la varianza σ^2 y se asume que el límite de error $\Lambda = 2 \sigma$, por lo que entonces $\Lambda^2 = 4 \sigma^2$, por lo tanto:

$$n_j = \frac{2 (3.422)^2 \sigma^2}{4 \sigma^2}$$

$$n_j = \frac{2(3.422)^2}{4} = 5.86$$

Aproximando este valor da 6, como valor de n_j , que debe ser el valor mínimo de repeticiones que se realizarán para cada tratamiento. Por lo tanto deberá realizarse 4 repeticiones o réplicas por bloque, lo que da un valor n_j de:

$$n_j = \# \text{ bloques} \times \# \text{ de réplicas} = 3 \times 4 = 12$$

En donde 12 será el número total de repeticiones que se realizarán por tratamiento, lo que se cumplirá con que n_j sea mayor o igual a 6 (28)

7.4.2.4 Análisis estadístico: Con los datos obtenidos se elaborará una curva de porcentaje de inflamación versus tiempo, y se calculará mediante integración numérica (método trapecial) el área bajo la curva como variable de respuesta. Con las áreas obtenidas para cada tratamiento, se realizará la prueba de ANDEVA de dos vías y al establecer si existe diferencia entre los tratamientos, se realizará la prueba de Dunnett para evaluar el efecto antiinflamatorio de los tratamientos frente al control negativo. Nivel de significancia ($p < 0.05$) (30).

8. RESULTADOS

8.1 Rendimiento de la extracción:

Para la realización de los extractos se utilizaron 932 g de hoja seca de *Crescentia alata* HBK (morro), de los cuales se obtuvieron 202 g de extracto Metanólico, 58 g de extracto Hexánico, 83.85 g de extracto Clorofórmico, 143 g de extracto Cloroformo-Metanólico y 53.58 g de sólidos disueltos de extracto acuoso. De los extractos anteriores se les evaluó actividad antiinflamatoria únicamente a los extractos metanólico, clorofórmico y cloroformo-metanólico ya que en el extracto etanólico y acuoso se obtuvo un rendimiento muy bajo.

8.2 Farmacología experimental

8.2.1 Ensayo Toxicológico:

Se evaluó la Dosis Letal Media (DL 50) del extracto Metanólico, que fue el que presentó la mejor respuesta antiinflamatoria, en ratones albinos de 25 y 30 g de peso. No se observaron cambios en el comportamiento de los animales de experimentación a dosis de 250, 350 y 450 mg/Kg de peso. Tampoco se observó muerte de ninguno de los sujetos experimentales. Por lo tanto la toxicidad aguda es mayor de 450 mg/Kg de peso para el extracto evaluado de *Crescentia alata* HBK (morro).

8.2.2 Ensayo antiinflamatorio:

Las tablas y las gráficas que detallan los resultados de la evaluación antiinflamatoria se presentan a continuación.

TABLA No. 1

% de inflamación vrs. tiempo de los extractos Metanólico, Clorofórmico, y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), Fármaco de Referencia (Control -).

Dosis: 201 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.31	0.29	0.32	0.29	0.30	0.02	4.96
3	0.32	0.30	0.32	0.30	0.31	0.01	3.72
5	0.31	0.31	0.33	0.30	0.31	0.01	4.03
AREA	1.26	1.20	1.29	1.19			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.34	0.34	0.33	0.33	0.34	0.01	1.72
3	0.31	0.30	0.30	0.29	0.30	0.01	2.72
5	0.28	0.25	0.25	0.27	0.26	0.02	5.71
AREA	1.24	1.19	1.18	1.18			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.30	0.31	0.35	0.34	0.33	0.02	7.32
3	0.31	0.29	0.30	0.29	0.30	0.01	3.22
5	0.28	0.25	0.27	0.24	0.26	0.02	7.02
AREA	1.20	1.14	1.22	1.16			

ENSAYO: CLOROFÓRMICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.35	0.33	0.34	0.33	0.38	0.08	22.26
3	0.31	0.30	0.30	0.30	0.30	0.00	1.65
5	0.26	0.25	0.25	0.28	0.26	0.01	5.44
AREA	1.23	1.18	1.19	1.21			

ENSAYO: CLOROFORMO - METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.30	0.31	0.35	0.34	0.33	0.02	7.32
3	0.30	0.29	0.31	0.29	0.30	0.01	3.22
5	0.25	0.24	0.26	0.24	0.25	0.01	3.87
AREA	1.15	1.13	1.23	1.16			

TABLA No. 2

Tabla de valores de diseño.

Extractos: Metanólico, Clorofórmico, y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 201 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO	CLOROFÓRMICO	CLOR-MET.
1	1.26	1.24	1.20	1.23	1.15
2	1.20	1.19	1.14	1.18	1.13
3	1.29	1.18	1.22	1.19	1.23
4	1.19	1.18	1.16	1.21	1.16
PROMEDIO	0.82	0.80	0.79	0.80	0.78
DESV. ST.	0.64	0.62	0.61	0.62	0.60
COEF. VAR.	77.59	77.51	77.54	77.49	77.58

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	3.19	5	0.64	2.00
ERROR	9.57	30	0.32	(NS)
TOTAL	12.76	35		

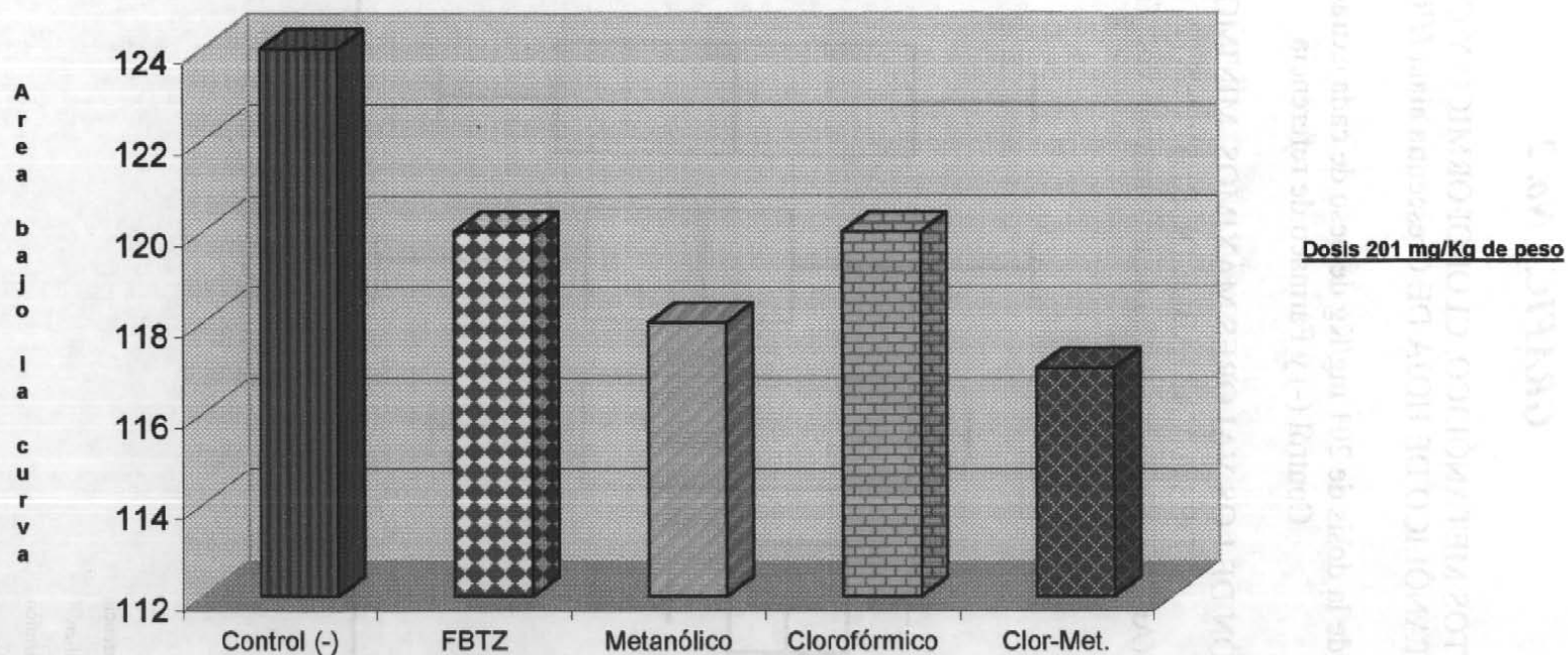
COMPARACION ES	DUNNETT		
	- 0.03	(NS)	0.87
FBTZ - Control	- 0.04	(NS)	
	- 0.02	(NS)	
	- 0.04	(NS)	
	- 0.82	(NS)	

CONCLUSIÓN:

Debido a que las diferencia entre medias de tratamiento son mayores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos son significativamente diferentes al control (-).

GRAFICA No. 1

Crescentia alata HBK



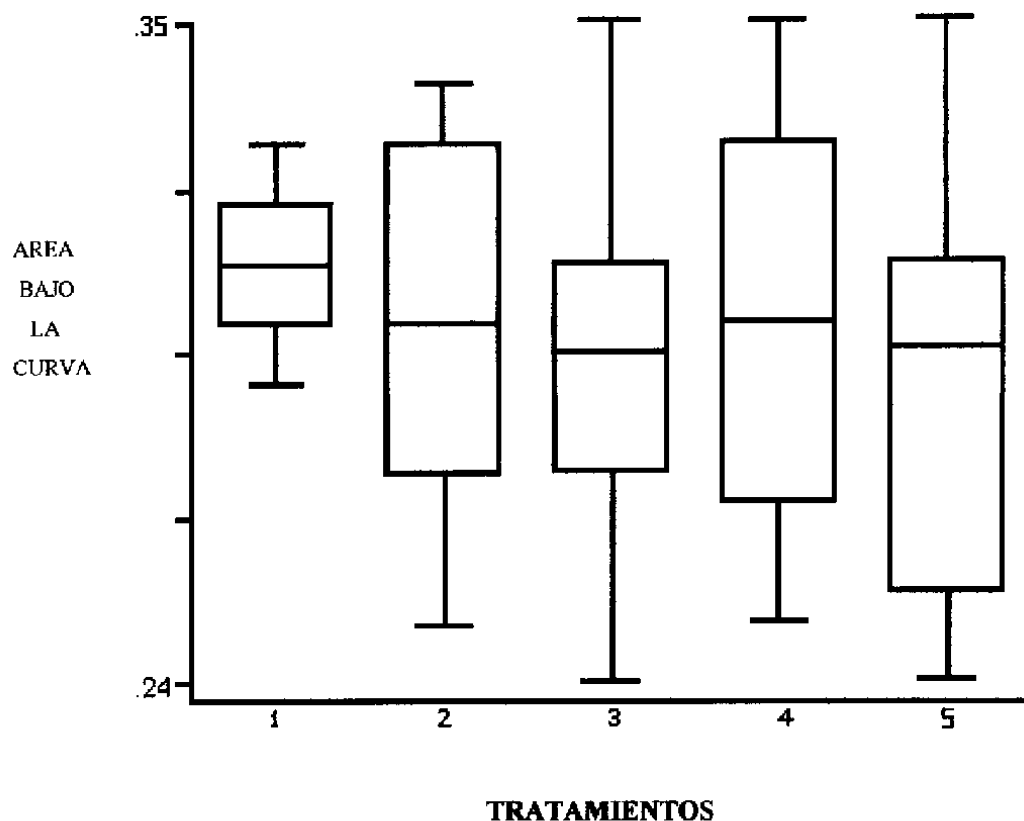
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vrs. tiempo

GRAFICA No. 2

EXTRACTOS METANÓLICO, CLOROFÓRMICO Y CLOROFORMO-METANÓLICO DE HOJA DE *Crescentia alata* HBK (*morro*).

Comparación de la dosis de 201 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación vrs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico
4. Extracto Clorofórmico
5. Extracto Clor-Met.

TABLA No. 3

% de inflamación vrs. tiempo de los extractos Metanólico, Clorofórmico, y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), Fármaco de Referencia (Control +).

Dosis: 175 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.25	0.31	0.29	0.25	0.28	0.03	10.91
3	0.25	0.27	0.32	0.31	0.29	0.03	11.49
5	0.32	0.24	0.28	0.32	0.29	0.04	13.21
AREA	1.07	1.09	1.21	1.19			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.28	0.28	0.24	0.31	0.28	0.03	10.35
3	0.19	0.27	0.23	0.27	0.24	0.04	15.96
5	0.16	0.25	0.21	0.23	0.21	0.04	18.18
AREA	0.82	1.07	0.91	1.08			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.26	0.20	0.31	0.28	0.26	0.05	17.70
3	0.25	0.25	0.25	0.17	0.23	0.04	17.39
5	0.23	0.25	0.26	0.21	0.24	0.02	9.34
AREA	0.99	0.95	1.07	0.83			

ENSAYO: CLOROFÓRMICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.25	0.25	0.28	0.26	0.26	0.01	5.44
3	0.31	0.25	0.30	0.25	0.28	0.03	11.54
5	0.32	0.32	0.34	0.23	0.30	0.05	16.28
AREA	1.19	1.07	1.22	0.99			

ENSAYO: CLOROFORMO - METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.25	0.18	0.23	0.30	0.24	0.05	20.69
3	0.25	0.18	0.19	0.28	0.23	0.05	21.31
5	0.19	0.12	0.16	0.15	0.16	0.03	18.62
AREA	0.94	0.66	0.77	1.01			

TABLA No. 4

Tabla de valores de diseño.

Extractos: Metanólico, Clorofórmico, y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 175 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO	CLOROFÓRMICO	CLOR-MET.
1	1.07	0.82	0.99	1.19	0.94
2	1.09	1.07	0.95	1.07	0.66
3	1.21	0.91	1.07	1.22	0.77
4	1.19	1.08	0.83	0.99	1.01
PROMEDIO	0.76	0.65	0.64	0.75	0.56
DESV. ST.	0.59	0.51	0.50	0.58	0.45
COEF. VAR.	77.79	78.93	78.40	78.25	80.50

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	2.41	5	0.48	2.06
ERROR	7.04	30	0.23	(NS)
TOTAL	9.45	35		

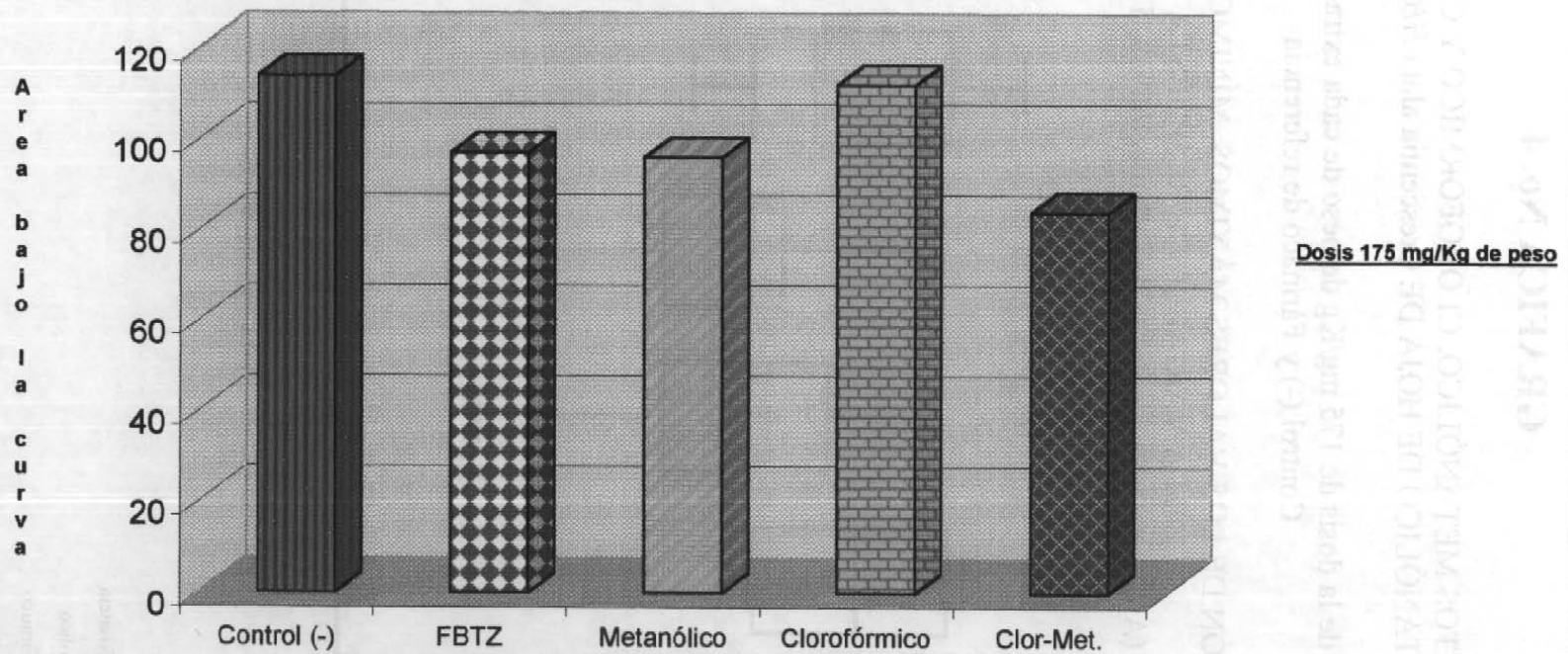
CONCLUSIÓN:

Debido a que las diferencia entre medias de tratamiento son mayores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Metanólico y Cloroformo-Metanólico son significativamente diferentes al Control (-).

Debido a que las diferencias entre medias de tratamiento son menores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Clorofórmico no son diferentes al Control (-).

GRAFICA No. 3

Crescentia alata HBK



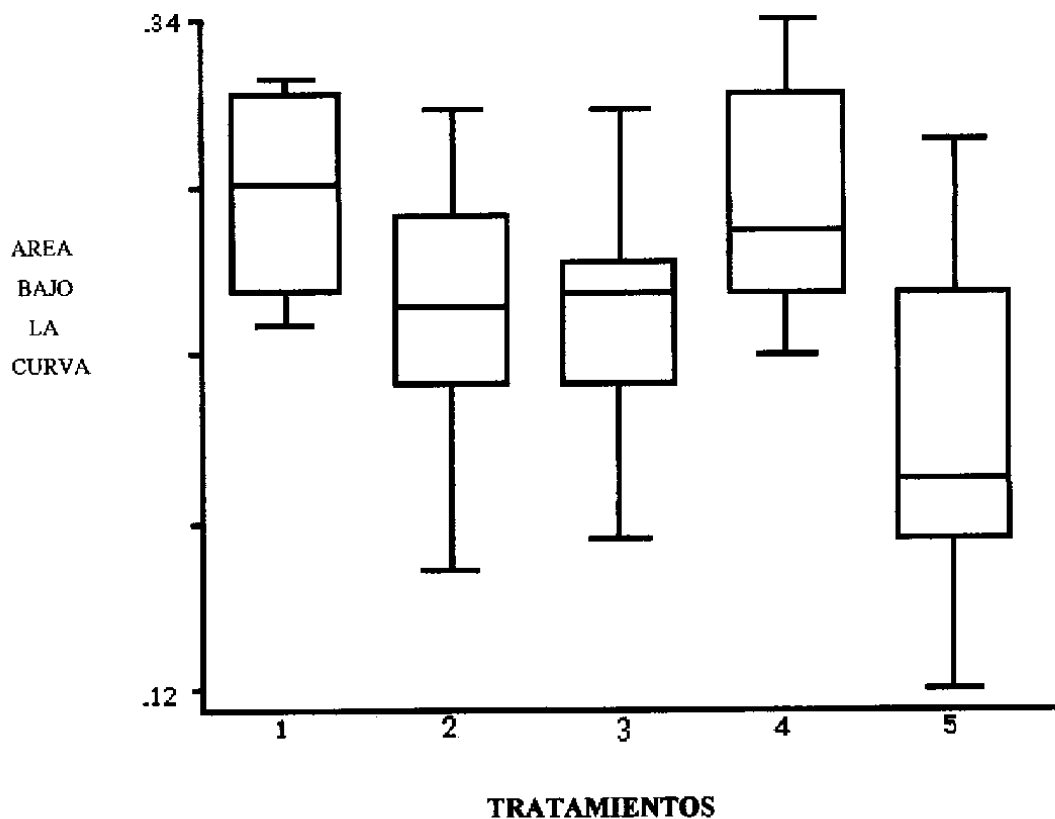
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vs. tiempo

GRAFICA No. 4

EXTRACTOS METANÓLICO, CLOROFÓRMICO Y CLOROFORMO-METANÓLICO DE HOJA DE *Crescentia alata* HBK (morro).

Comparación de la dosis de 175 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación vs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico
4. Extracto Clorofórmico
5. Extracto Clor-Met.

TABLA No. 5

% de inflamación vrs. tiempo de los extractos Metanólico y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), Fármaco de Referencia (Control +).

Dosis: 152 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.28	0.30	0.28	0.26	0.28	0.02	5.83
3	0.31	0.28	0.29	0.30	0.30	0.01	4.38
5	0.32	0.25	0.30	0.29	0.29	0.03	10.15
AREA	1.22	1.11	1.16	1.15			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.29	0.30	0.29	0.25	0.28	0.02	7.85
3	0.28	0.28	0.28	0.27	0.28	0.00	1.80
5	0.25	0.25	0.24	0.23	0.24	0.01	3.95
AREA	1.10	1.11	1.09	1.02			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.29	0.26	0.29	0.31	0.29	0.02	7.17
3	0.28	0.27	0.28	0.27	0.28	0.01	2.10
5	0.24	0.27	0.24	0.27	0.26	0.02	6.79
AREA	1.09	1.07	1.09	1.12			

ENSAYO: CLOROFORMO - METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.31	0.31	0.30	0.29	0.30	0.01	3.17
3	0.27	0.27	0.30	0.31	0.29	0.02	7.17
5	0.27	0.28	0.29	0.28	0.28	0.01	2.92
AREA	1.12	1.13	1.19	1.19			

TABLA No. 6

Tabla de valores de diseño.

Extractos: Metanólico y Cloroformo-Metanólico obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 152 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO	CLOR - MET.
1	1.22	1.10	1.09	1.12
2	1.11	1.11	1.07	1.13
3	1.16	1.09	1.09	1.19
4	1.15	1.02	1.12	1.19
PROMEDIO	0.77	0.72	0.73	0.77
DESV. ST.	0.60	0.56	0.56	0.60
COEF. VAR.	77.59	77.58	77.49	77.55

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	4.49	5	0.90	4.00
ERROR	6.74	30	0.22	(p<0.05)
TOTAL	11.24	35		

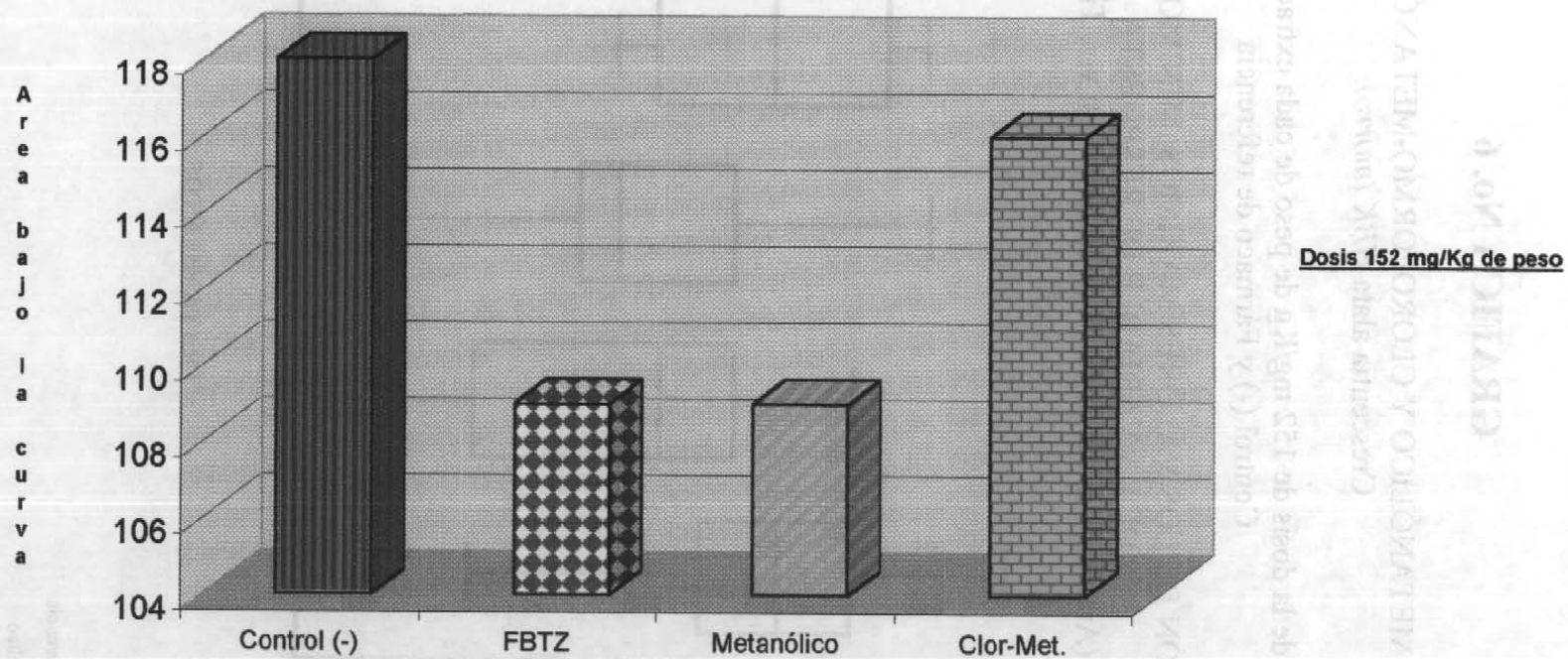
CONCLUSIÓN:

Debido a que las diferencia entre medias de tratamiento son mayores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Metanólico son significativamente diferentes al Control (-).

Debido a que las diferencias entre medias de tratamiento son menores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Cloroformo-Metanólico no son diferentes al Control (-).

GRAFICA No. 5

Crescentia alata HBK



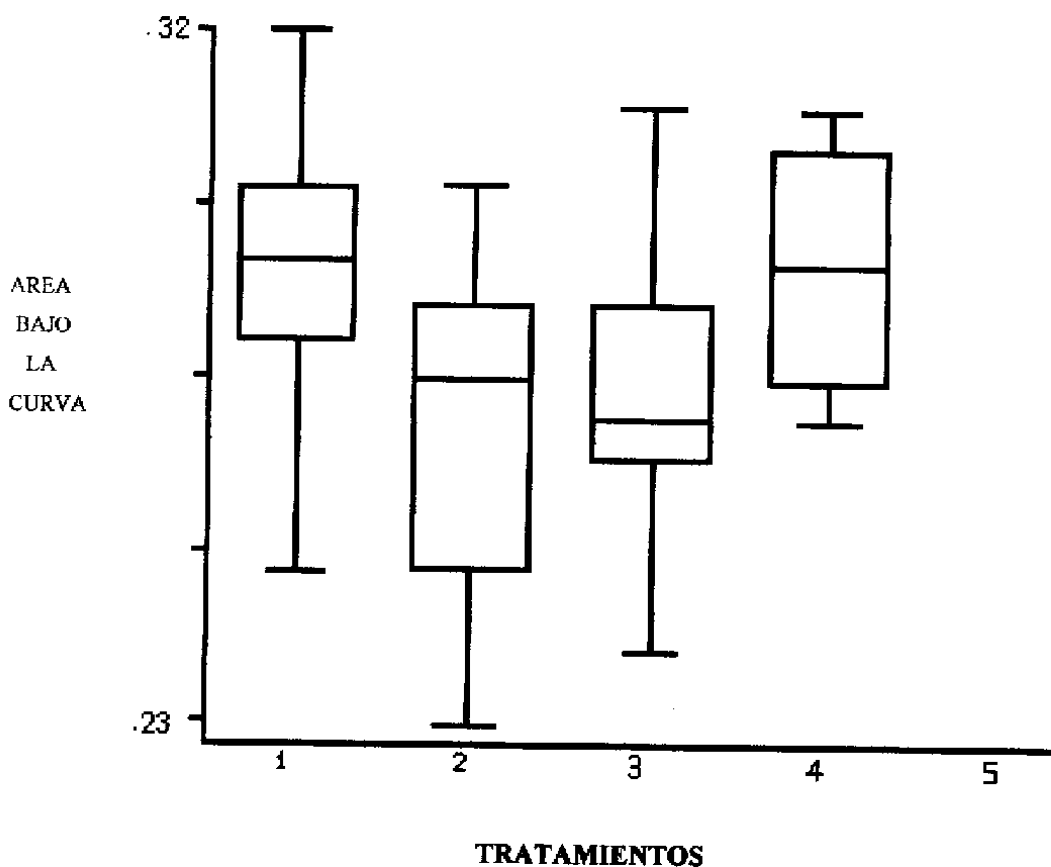
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vs. tiempo

GRAFICA No. 6

EXTRACTOS METANÓLICO Y CLOROFORMO-METANÓLICO DE HOJA DE
Crescentia alata HBK (morro).

Comparación de la dosis de 152 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos
Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES
DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación vs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico
4. Extracto Clor-Met.

TABLA No. 7

% de inflamación vrs. tiempo del extracto Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), Fármaco de Referencia (Control +).

Dosis: 132 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.33	0.34	0.31	0.32	0.33	0.01	3.97
3	0.33	0.36	0.35	0.35	0.35	0.01	3.62
5	0.34	0.37	0.35	0.34	0.35	0.01	4.04
AREA	1.33	1.43	1.36	1.36			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.34	0.33	0.31	0.31	0.32	0.02	4.65
3	0.30	0.30	0.29	0.30	0.30	0.00	1.68
5	0.28	0.25	0.25	0.25	0.26	0.02	5.83
AREA	1.22	1.18	1.14	1.16			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.32	0.35	0.36	0.31	0.34	0.02	7.11
3	0.32	0.32	0.36	0.38	0.35	0.03	8.70
5	0.31	0.32	0.32	0.30	0.31	0.01	3.06
AREA	1.27	1.31	1.40	1.37			

TABLA No. 8

Tabla de valores de diseño.

Extracto: Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 132 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO
1	1.33	1.22	1.27
2	1.43	1.18	1.31
3	1.36	1.14	1.40
4	1.36	1.16	1.37
PROMEDIO	0.91	0.78	0.89
DESV. ST.	0.71	0.61	0.69
COEF. VAR.	77.54	77.53	77.63

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	6.76	5	1.35	6.01
ERROR	6.75	30	0.22	(p<0.05)
TOTAL	13.51	35		

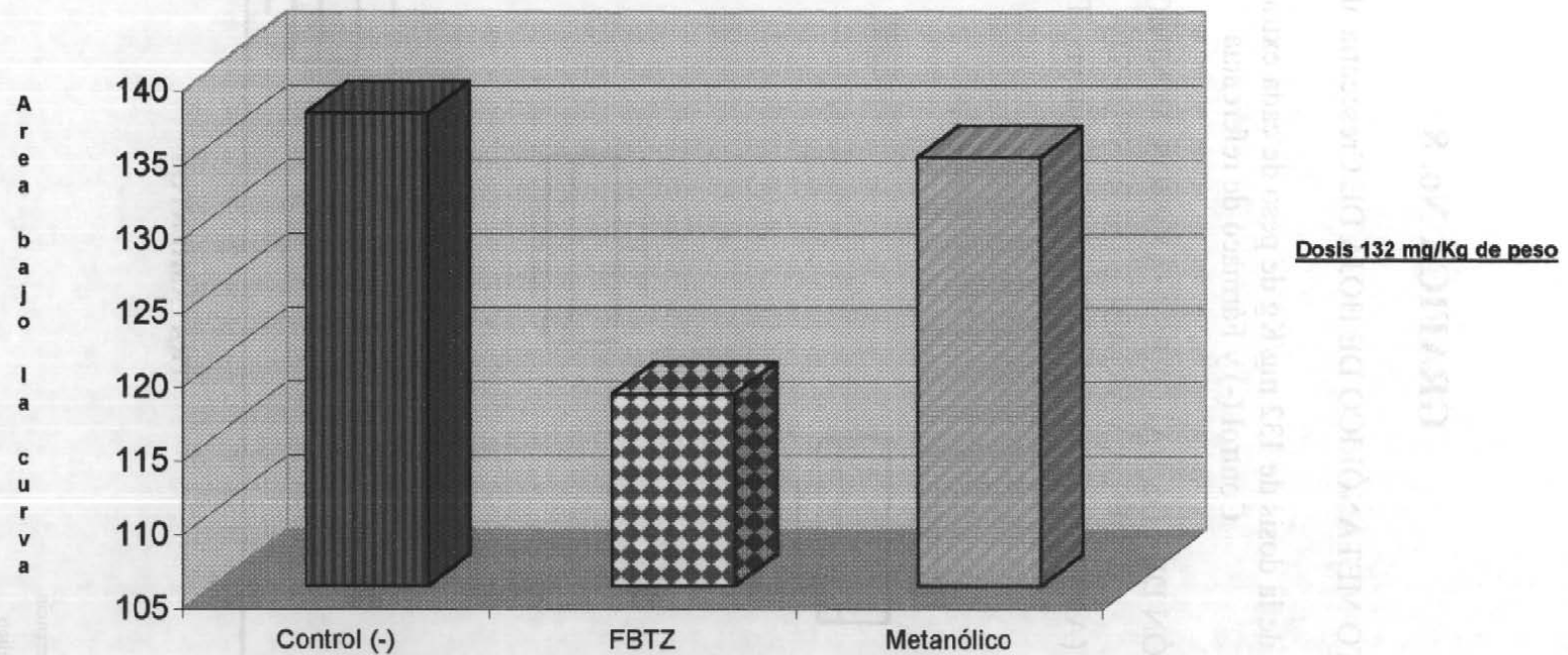
COMPARACION ES FBTZ - Control			DUNNETT
	- 0.13	(NS)	0.73
	- 0.02	(NS)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	

CONCLUSIÓN:

Debido a que las diferencias entre medias de tratamiento son menores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Metanólico no son diferentes al Control (-).

GRAFICA No. 7

Crescentia alata HBK



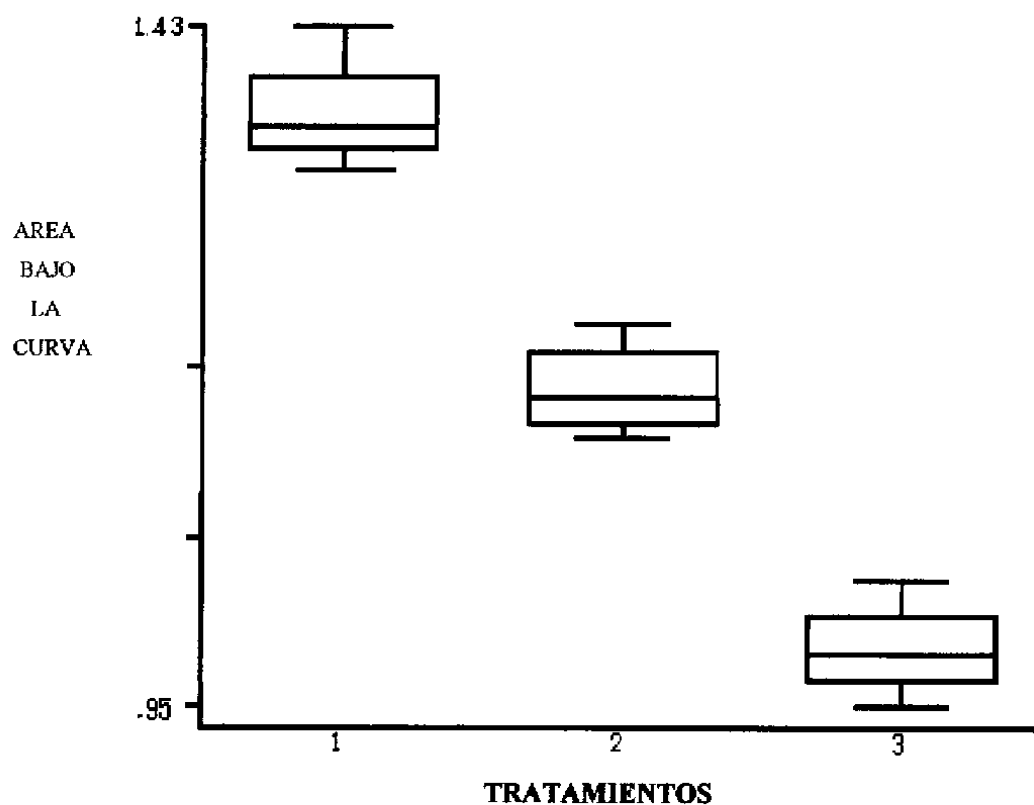
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vrs. tiempo

GRAFICA No. 8

EXTRACTO METANÓLICO DE HOJA DE *Crescentia alata HBK (morro)*.

Comparación de la dosis de 132 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación vs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico

TABLA No. 9

% de inflamación vs. tiempo del extracto Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), FÁrmaco de Referencia (Control +).

Dosis: 115 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.33	0.34	0.31	0.32	0.33	0.01	3.97
3	0.33	0.36	0.35	0.35	0.35	0.01	3.62
5	0.34	0.37	0.35	0.34	0.35	0.01	4.04
AREA	1.33	1.43	1.36	1.36			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.34	0.33	0.31	0.31	0.32	0.02	4.65
3	0.30	0.30	0.29	0.30	0.30	0.00	1.68
5	0.28	0.25	0.25	0.25	0.26	0.02	5.83
AREA	1.22	1.18	1.14	1.16			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.34	0.33	0.33	0.36	0.34	0.01	4.16
3	0.34	0.33	0.32	0.34	0.33	0.01	2.88
5	0.36	0.36	0.37	0.38	0.37	0.01	2.61
AREA	1.38	1.35	1.34	1.42			

TABLA No. 10

Tabla de valores de diseño.

Extracto: Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 115 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO		
1	1.33	1.22	1.38		
2	1.43	1.18	1.35		
3	1.36	1.14	1.34		
4	1.36	1.16	1.42		
PROMEDIO	0.91	0.78	0.92		
DESV. ST.	0.71	0.61	0.71		
COEF. VAR.	77.54	77.53	77.52		

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	6.89	5	1.38	6.02
ERROR	6.87	30	0.23	(p<0.05)
TOTAL	13.76	35		

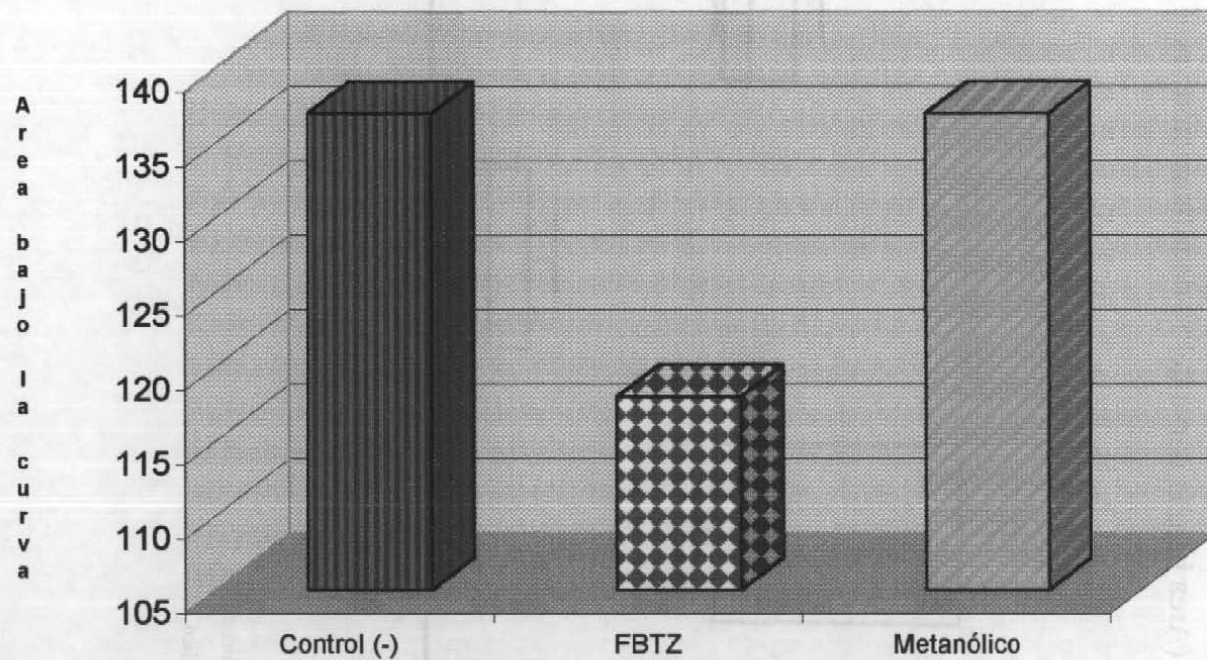
COMPARACION			DUNNETT
ES	- 0.13	(NS)	0.73
FBTZ - Control	- 0.00	(NS)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	

CONCLUSIÓN:

Debido que las diferencias entre medias de tratamiento son menores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Metanólico no son diferentes al Control (-).

GRAFICA No. 9

Crescentia alata HBK



Dosis 115 mg/Kg de peso

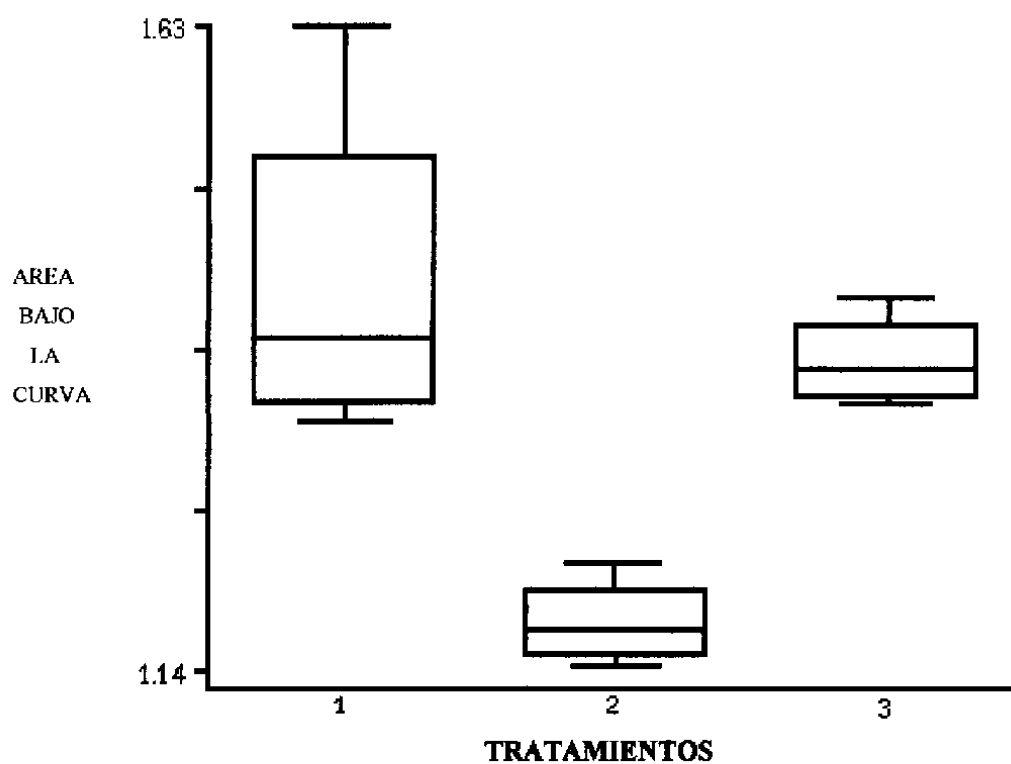
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vrs. tiempo

GRAFICA No. 10

EXTRACTOS METANÓLICO DE HOJA DE *Crescentia alata HBK (morro)*.

Comparación de la dosis de 115 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Area bajo la curva del % de inflamación vs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico

TABLA No. 11

% de inflamación vrs. tiempo del extracto Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Tratamientos: Blanco(Control -), Fármaco de Referencia (Control +).

Dosis: 100 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

ENSAYO: CONTROL (-) AGUA DESTILADA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.33	0.34	0.31	0.32	0.33	0.01	3.97
3	0.33	0.36	0.35	0.35	0.35	0.01	3.62
5	0.34	0.37	0.35	0.34	0.35	0.01	4.04
AREA	1.33	1.43	1.36	1.36			

ENSAYO: CONTROL (+) FENIL BUTAZONA

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.34	0.33	0.31	0.31	0.32	0.02	4.65
3	0.30	0.30	0.29	0.30	0.30	0.00	1.68
5	0.28	0.25	0.25	0.25	0.26	0.02	5.83
AREA	1.22	1.18	1.14	1.16			

ENSAYO: METANÓLICO

Tiempo hrs	% de Inflamación				PROM.	DESV. ST.	COEF.VAR.
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄			
1	0.32	0.35	0.36	0.35	0.35	0.02	5.02
3	0.32	0.34	0.35	0.38	0.35	0.02	7.19
5	0.38	0.38	0.40	0.38	0.39	0.01	2.60
AREA	1.34	1.41	1.46	1.49			

TABLA No. 12

Tabla de valores de diseño.

Extracto: Metanólico, obtenidos a partir de hoja de *Crescentia alata* HBK.

Dosis: 100 mg/Kg. de peso.

Variable de respuesta: valores de área bajo la curva % de inflamación vrs. tiempo.

AREA BAJO LA CURVA

RATON	CONTROL	FBTZ	METANOLICO		
1	1.33	1.22	1.34		
2	1.43	1.18	1.41		
3	1.36	1.14	1.46		
4	1.36	1.16	1.49		
PROMEDIO	0.91	0.78	0.95		
DES. ST.	0.71	0.61	0.74		
COEF. VAR.	77.54	77.53	77.64		

ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
TRATAMIENTOS	7.10	5	1.42	6.02
ERROR	7.07	30	0.24	(p<0.05)
TOTAL	14.17	35		

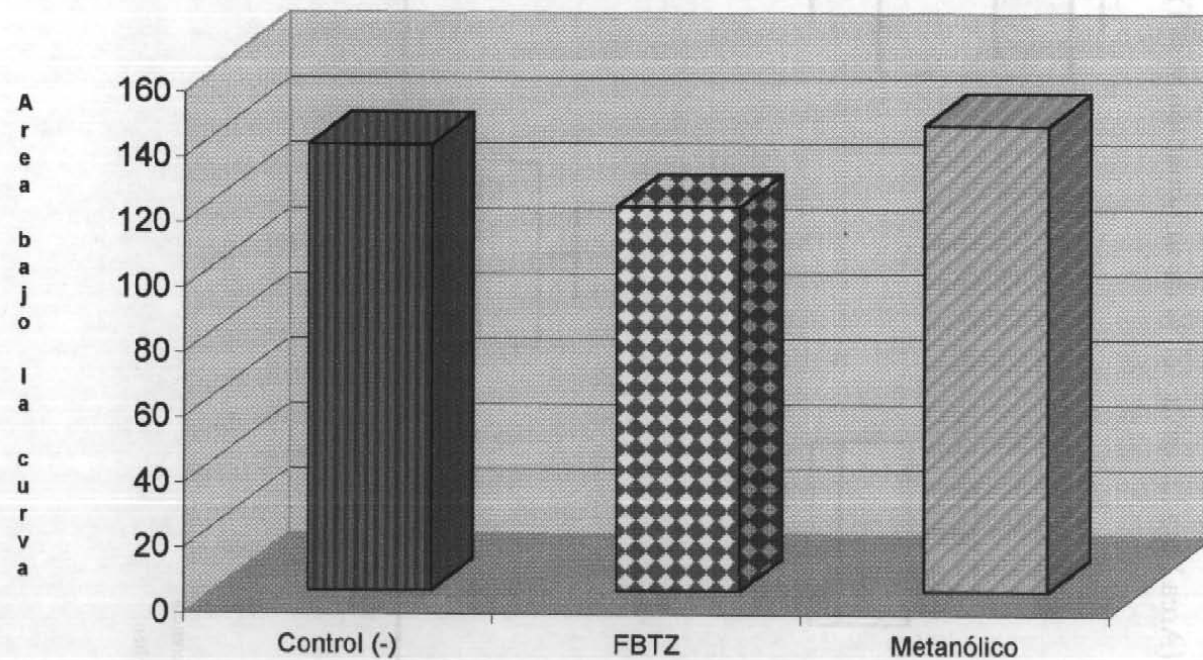
COMPARACION ES			DUNNETT
FBTZ - Control	- 0.13	(NS)	0.75
	0.04	(NS)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	
	- 0.91	(p<0.05)	

CONCLUSIÓN:

Debido que las diferencias entre medias de tratamiento son menores que el valor de diferencia crítica de Dunnett, se concluye que los tratamientos con extracto Metanólico no son diferentes al Control (-).

GRAFICA No. 11

Crescentia alata HBK



Dosis 100 mg/Kg de peso

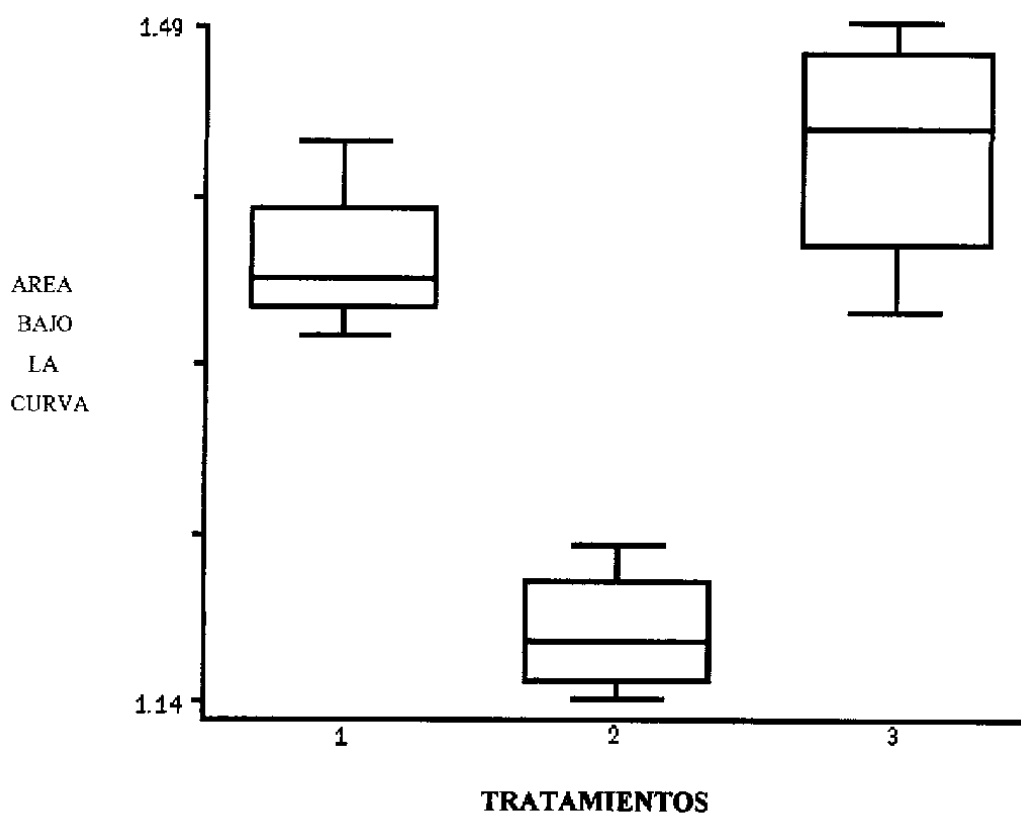
Valores Promedio de la Variable de Respuesta
Area bajo la curva del % de inflamación vrs. tiempo

GRAFICA No. 12

EXTRACTOS METANÓLICO DE HOJA DE *Crescentia alata* HBK (*morro*).

Comparación de la dosis de 100 mg/Kg de peso de cada extracto contra los grupos Control (-) y Fármaco de referencia

DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS Y PERCENTILES DE LA VARIABLE DE RESPUESTA
(Área bajo la curva del % de inflamación vs. Tiempo)



1. Control (-)
2. Fármaco de Referencia
3. Extracto Metanólico

8.3 Caracterización Fitoquímica: A continuación se presentan las tablas con los resultados del tamizaje macro y semimicro:

TABLA No. 13

INVESTIGACIÓN DE TANINOS

Tubo No.	Resultado
1	Control: café obscuro
2	Ligero precipitado
3	Precipitado
4	Precipitado grisáceo

TABLA No. 14

INVESTIGACIÓN DE ALCALOIDES

Tubo No.	Resultado
1	Control: Ligero precipitado café
2	Ligero precipitado café
3	Ligero precipitado café claro
4	Ligero precipitado café

TABLA No. 15

INVESTIGACIÓN DE FLAVONOIDES

Tubo No.	Resultado
1	Control: Café rojizo obscuro
2	Café rojizo claro
3	Café rojizo obscuro
4	Verde
5	Café rojizo obscuro

Investigación de Saponinas: test de espuma:

Capa de espuma persistente: 1.9 cm.

Estos resultados se consideraron dudosos por lo que se procedió a confirmar su presencia por medio de Cromatografía en Capa Fina, obteniéndose los siguientes resultados:

TABLA No. 16

**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
INVESTIGACIÓN DE ALCALOIDES**

Rf	Medios Físicos		Cromógenos Químicos
	Luz ultra Violeta		Dragendorf
	254 nm	365 nm	
0.64			Café rojizo
0.45			Café oscuro
0.28			Café claro

TABLA No. 17

**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
INVESTIGACIÓN DE FLAVONOIDES**

Rf	Medios Físicos		Cromógenos Químicos
	Luz ultra Violeta		Reactivo de productos naturales
	254 nm	365 nm	
0.85			Amarillo
0.60			Amarillo
0.51			Anaranjado
0.41			Anaranjado
0.28			Celeste violeta

TABLA No. 18

**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
INVESTIGACIÓN DE SAPONINAS**

Rf	Medios Físicos		Cromógenos Químicos
	Luz ultra Violeta		Liebermann-Burchard
	254 nm	365 nm	
0.25			Ligeramente amarillo

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Farmacología Experimental:

9.1.1 Ensayo Toxicológico: El extracto Metanólico no fué tóxico a dosis de 250,350 y 450 mg/Kg de peso debido a que no se observaron cambios en el comportamiento de los animales, ni muerte alguna; como consecuencia de ello la DL_{50} es mayor de 450 mg/Kg de peso, para la hoja de *Crescentia alata* HBK (morro).

9.1.2 Ensayo antiinflamatorio:

9.1.2.1 Extracto Hexánico y Acuoso: Se contó con un rendimiento bajo de muestra después de la extracción con éstos solventes por lo que no se evaluó actividad antiinflamatoria.

9.1.2.2 Extracto Metanólico: Los resultados que se obtuvieron demostraron que éste extracto posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa a dosis de 201,175 y 152 mg/Kg de peso, no así a 132, 115 y 100 mg/Kg de peso, por lo que se puede inferir que en éste extracto se encuentra extraído el compuesto responsable de la actividad antiinflamatoria de la hoja de *Crescentia alata* HBK (morro).

9.1.2.3 Extracto Clorofórmico: Los resultados obtenidos demostraron que solo a 201 mg/Kg de peso posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa, por lo que se puede inferir que por cosolubilidad en el extracto Clorofórmico se extrajeron pequeñas cantidades del compuesto responsable de la actividad antiinflamatoria, que se encuentra en el extracto Metanólico de hoja de *Crescentia alata* HBK (morro)

9.1.2.4 Extracto Cloroformo-Metanólico: Los resultados obtenidos demostraron que solo a 201 y 175 mg/Kg de peso posee actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa, por lo que se puede inferir, al igual que el extracto Clorofórmico, que se extrajeron pequeñas cantidades del compuesto responsable de la actividad antiinflamatoria, que se encuentra en la hoja de *Crescentia alata* HBK (morro).

9.2 Tamizaje macro y semimicro: se ha reportado que los Taninos y Flavonoides poseen entre otras actividades acción antibacteriana. Los Alcaloides generalmente ejercen algún tipo de actividad farmacológica, usualmente sobre el sistema nervioso central. Las Saponinas cuentan entre otras propiedades con acción antiinflamatoria. (4,35, 36, 37).

Las propiedades que poseen estos metabolitos determinaron la importancia de

realizar un tamizaje macro y semimicro del extracto que presentó la mejor respuesta antiinflamatoria, obteniéndose los siguientes resultados.

- 9.2.1 **Taninos:** Los resultados de precipitación proporcionaron una evidencia preliminar de la presencia de Taninos. Por los resultados de color se presume presencia de Taninos tipo Catecol. (Ver tabla No. 13)
- 9.2.2 **Alcaloides:** Los resultados no proporcionan evidencia concluyente en lo referente a la presencia o ausencia de Alcaloides. (Ver Tabla No. 14)
- 9.2.3 **Flavonoides:** Por los resultados de precipitación y coloración se presume presencia de flavonoides. (Ver tabla No. 15)
- 9.2.4 **Saponinas:** La espuma persistente por mas de 30 minutos proporciona una evidencia preliminar de la presencia de Saponinas.

9.3 Tamizaje por medios Cromatográficos:

- 9.3.1 **Alcaloides:** No hay una evidencia consistente de la presencia de alcaloides ya que la fluorescencia del Extracto no es igual o similar a la del estandar. El estandar fluoresce de color naranja y el extracto florece de color café. (Ver tabla No. 16)
- 9.3.2 **Flavonoides:** Se presume presencia de Flavonoides de tipo Naftoflavonas y Morinas las cuales fluorescen de color celeste y amarillo respectivamente, según estándar, encontrándose en el extracto una coloración celeste violeta a un Rf de 0.28 y una coloración amarillenta a un Rf de 0.60 y 0.85. (Ver tabla No. 17). Sin embargo la bibliografía reporta que fluorescen de color amarillento las Flavonas, Flavonoles y Flavonones, e intensamente azul los acidos fenol carboxílicos (34)
- 9.3.3. **Saponinas:** Se presume presencia de Saponinas ya que se observa en la fluorescencia de color ligeramente amarillento a un Rf de 0.25 del mismo color que fluoresce el estandar de Saponinas. (Ver tabla No. 18).

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El extracto Metanólico de hojas de *Crescentia alata* HBK (morro) posee actividad antiinflamatoria significativa a dosis de 201, 175 y 152 mg/Kg de peso.
- 10.2 El extracto Clorofórmico de hojas de *Crescentia alata* HBK (morro) posee actividad antiinflamatoria significativa unicamente a dosis de 201 mg/Kg de peso.
- 10.3 El extracto Cloroformo-Metanólico de hojas de *Crescentia alata* HBK (morro) posee actividad antiinflamatoria significativa a dosis de 201 y 175 mg/Kg de peso.
- 10.4 A dosis de 132, 115 y 100 mg/Kg de peso ningún extracto de hojas de *Crescentia alata* HBK posee actividad antiinflamatoria significativa.
- 10.5 La dosis Letal Media (DL 50) es mayor de 450 mg/Kg de peso para los extractos de hoja de *Crescentia alata* HBK (morro).
- 10.6 Existe una evidencia preliminar de la presencia de Taninos tipo catecol, Flavonoides tipo Naftoflavonas y Morinas, así como de Saponinas.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Complementar el estudio de evaluación antiinflamatoria Fase III de la hoja de *Crescentia alata* HBK (morro), hasta aislar el principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria.

- 11.2 Realizar estudios de actividad antiinflamatoria u otras actividades farmacológicas a las otras especies de *Crescentia*.

12 REFERENCIAS

- 12.1. Ciulei I. **Practical Manuals on the industrial utilization of Medicinal Plants. Methodology for analysis of vegetable drugs.** Bucarest: Fac. of Pharmacy, 1982, 72p.
- 12.2. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw or the rats as assay for anti-inflammatory drugs. Proc Soc Exp. Biol. Med. 1962; III: 544-547.
- 12.3. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rat. J Pharm. Dyn. 1,981. 565 -575.
- 12.4. Medinilla A, Beatriz E. **Manual de Laboratorio de Fitoquímica.** Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 29p.
- 12.5. **Informe Final del proyecto de actividad antiinflamatoria de plantas medicinales de uso popular en Guatemala.** Dirección General de Investigaciones USAC - DIGI. 1,996.
- 12.6. Cáceres A. **Plantas de uso Medicinal en Guatemala.** Editorial Univesitaria USAC. 1,996. 402 p. (p. 273-275).
- 12.7. De Mena G, María Gladys. **Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora Salvadoreña.** San Salvador, El Salvador. Editorial Universitaria 1,994. 563 p. (p. 85-86).
- 12.8. Lo. Williams. **Cieba the usetul plants of Central America.** 1981.(p.44-47)
- 12.9. Instituto Nutricional de C.A. y Panamá (INCAP). **Plantas alimenticias y medicinales de las zonas semiáridas de Guatemala.** 225 p. (p. 25-28).
- 12.10. **Varios Autores. Cuaderno de investigación .** Dirección General de investigaciones USAC-DIGI. Llerena S.A. 1,989. 249 p. (p. 56-58)
- 12.11. PR. Hose, et al. **Plantas Medicinales de Honduras.** Honduras.Litografía
- 12.12. López. 1,995. (p.145-146).
- 12.13. **Mendieta Silva, R. Evaluación Química y Nutricional de la pulpa y semilla del fruto de morro sometido al proceso de secado en horno.** 1,998.

- 12.14. Del Cid Ayala, J. Características Químicas y Nutricionales del aceite de semilla del morro (*Crescentia alata*) obtenido por prensa. CESNA, Guatemala. 1,980.
- 12.15. Morton J. Atlas of Medicinal Plants of Middle America Bahamas to Yucatán. USA.: Charles C Thomas 1,981. 1420 p.
- 12.16. Cáceres A. et al . Actividad antiinflamatoria de Plantas Medicinales de Uso popular en Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Cuadernos de Investigación Dirección General de Investigación. No. 5-92. 1,993. 61 p. (p. 31 -35)
- 12.17. Nash D. Flora de Guatemala USA: Fieldiana Botany. Vols 24, Parte X, Número 3 y 4 L 976. 431 p. (183 - 187).
- 12.18. Cyril Hardey Nelson Sutherland. Plantas comunes de Honduras. Editorial Universitaria. Tegucigalpa, Honduras C.A. 1986. 438 p. (p. 383).
- 12.19. Germosen. Hacia una Farmacopea Caribeña. Tramil 7 . Santo Domingo 1,995. (p. 195 - 197).
- 12.20. Standley P. C. et al . Flora of Guatemala. Fieldiana : Botany 24 (10):
12.21. 185. 1,974.
- 12.22. Martínez M. Plantas útiles de la Flora Mexicana. México. Ed. Botas 1,959. 621 p. (p. 191 - 192).
- 12.23. Zavala, Ma: Perez, S: Perez,RM: .Antimicrobial Screening of some Medicinal Plantas. Phytother RES 11 5: 368-371 (1997) (DEPT SIST BIOL, UNIV AUTON METROP MÉXICO),(BASE DE DATOS NAPRALERT)
- 12.24. Scogin, R: Anthocyanins of the Bignoniaceae. Biochem Syst Ecol 8: 273-276 (1,980) (RANCHO SANTA ANA BOT GARDEN CLAREMONTCA 91711 USA). (BASE DE DATOS NAPRALERT)
- 12.25. Hirs Chhorn, HH: Botanical Remedies of south and Central America, and the Caribbean : an archival, analisis parte 2. Conclusión. Jethnopharmacol 5 2 : 163-180 (1,982) (PIZZARRO ST CORAL, GABLES FL 33134 USA) (BASE DE DATOS NAPRALERT)

- 12.26. Basile U. Instruction Manual Uarese. Italy: Biological Research Apparatus 21025 Comerio, 1988. 24 p. (p. 2).
- 12.27. Goodman & Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9a. Ed. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. México 1,996. 1996 p (p.689-690).
- 12.28. Litter M. Farmacología. 7a. Ed Buenos Aires: El Ateneo. 1,988. 1872 p. (p. 1329-1335).
- 12.29. Genaro AR, comp. Remington Farmacia. 17a. ed. Marino MA., trad. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. Vols 2, Vol. 2 1987.2723 p. (p.1522).
- 12.30. Spearman G, Karber DJ. Finner statistical method in Biological assay. London: C.H. Griffin and Co., 1,952. 524 p.
- 12.31. Souzabrito, Alba. Manual de ensayos toxicológicos in vivo. Campinas, Sp: Editora de UNICAMP 1994. 15p.
- 12.32. Matute J. ¿ Cuántas repeticiones tengo que hacer en mi insayo?. Revista nutricional al día, Boletín Semestral de la Escuela de Nutrición, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 1990; IV-2: 29-50.
- 12.33. Cronquist A. An integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York. U.S.A. 1,981.
- 12.34. H. Wagner S. Blandt E.M. Zgainski. Plant Drug Analysis .Berlin Heiderlberg. 1984. 320 p. (p. 163-174, 228-239)
- 12.35. Claus MP. "Chemistry and Biological Activities of Plants of the Genus Neurolaena" 2da. Ed. Costa Rica: Limusa, 1996. (p. 2)
- 12.36. Schimidt – Hebbel. Química y Tecnología de los alimentos. Santiago de Chile: Salesiana, 1966. 117 p. (p. 40).
- 12.37. Alborno A. Productos Naturales: Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas. 2da. Ed. Venezuela: Linusa, 1980. 976 p (p. 616)

13. ANEXOS

INDICE DE ANEXOS

Anexo No. 1 Clasificación Botánica

Anexo No. 2 Descripción de la especie

Anexo No. 3 Dibujo de *Crescentia alata*.

Anexo No. 4 Dibujos de *Crescentia alata* y *Crescentia cujete*

Anexo No. 5 Solución para el pletismómetro

Anexo No. 6 Farmacología sobre la Fenilbutazona

ANEXO No. 1**CLASIFICACIÓN BOTÁNICA**

REINO:..... Vegetal Plantae

SUBREINO:..... Embryobionta

DIVISION:..... Magnoliophyta

CLASE:..... Magnoliopsida

SUB-CLASE:..... Asteridae

ÓRDEN:..... Scrophulariales

FAMILIA:..... Bignoniaceae

GÉNERO:..... *Crescentia*ESPECIE:..... *Crescentia alata*

(31)

ANEXO No. 2

DESCRIPCION DE LA ESPECIE

Hábito:

Arboles bajos, raramente de 12 mts. de alto, con una copa redondeada o extendida, el tronco de 50 cms. de diámetro, corto, las ramas gruesas, y algunas veces intercaladas; corteza café claro, escamosa o profundamente fisurada, fibrosa.

Hojas:

Trilobuladas o en el estado juvenil, algunas veces simples o bilobuladas, el peciolo ampliamente alado y semejante a foliolos; los foliolos sésiles, lineares a angostamente obovaladas, enteros, obtusos o redondeados en el ápice, cuneados en la base, coriáceos, algunas veces lepidotos en el envés.

La forma en cruz de las hojas hizo que los españoles pensaran que ésta planta era un símbolo cristiano de la cruz. Esta forma de hoja sirve para diferenciar ésta especie de la *Crescentia cujete*.

Flores:

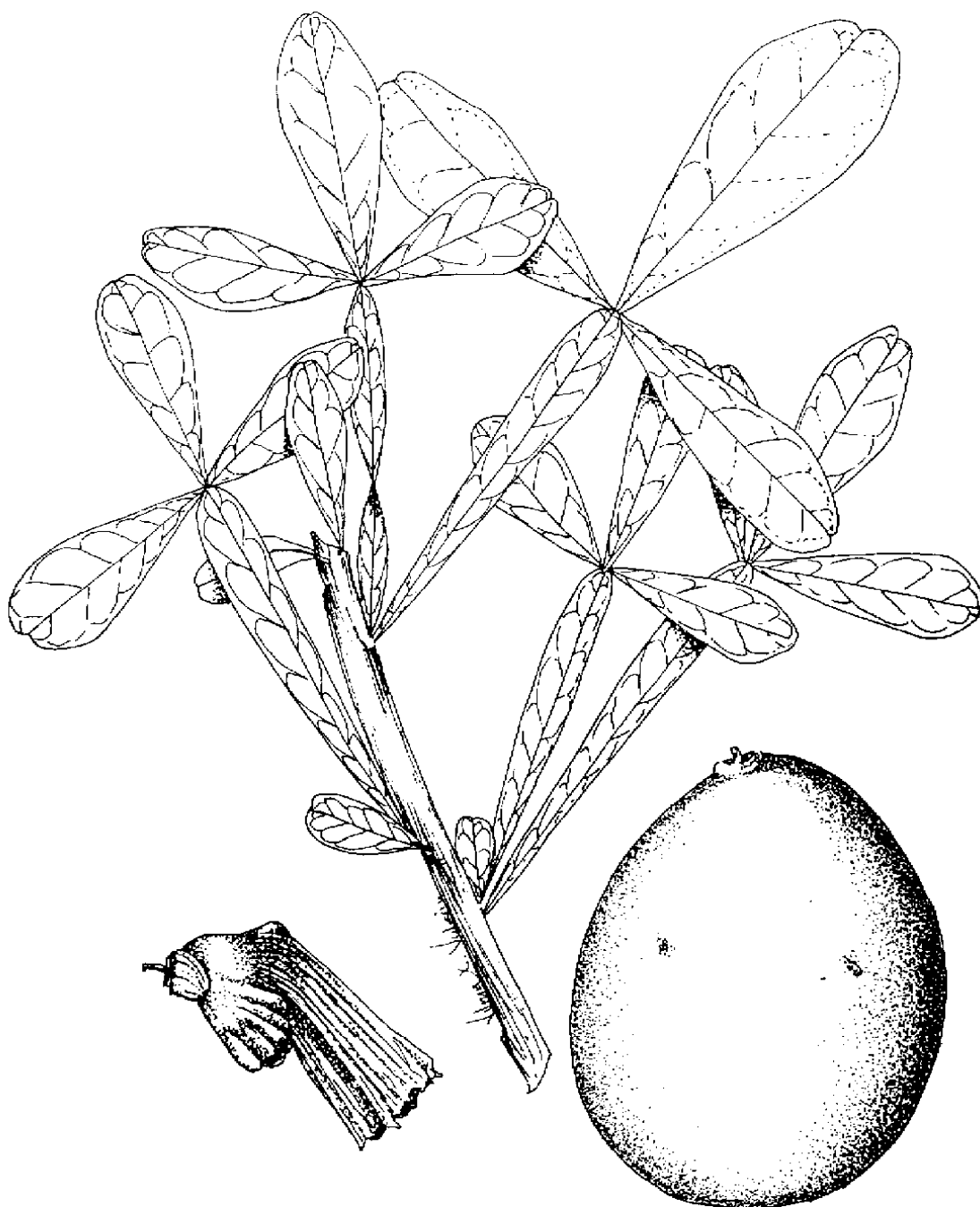
Cáliz bilabiado, profundamente dividido, de 1.5-2 cms. de largo, glabro.

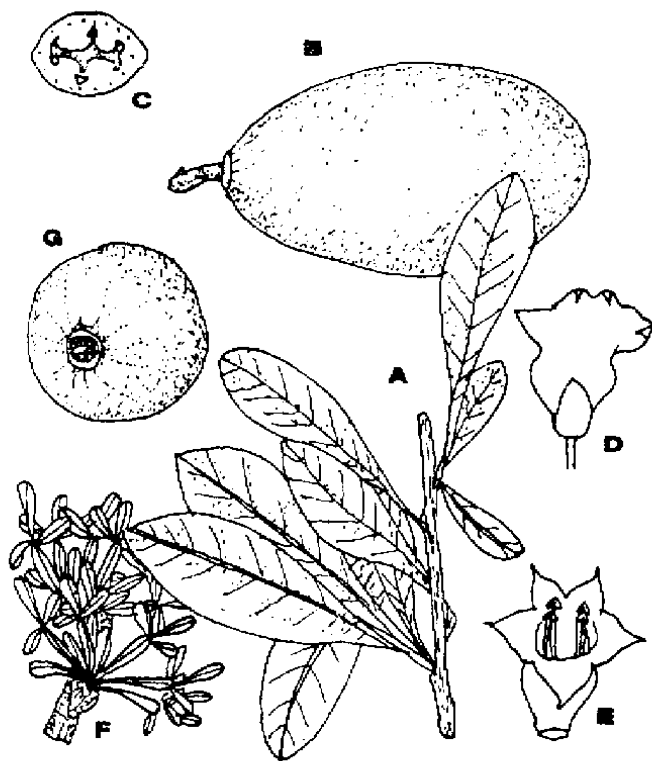
Corola de 6-7 cms de largo, verduzca y café púrpura o amarillento, algunas veces con venas de color rosa púrpura. Las flores despiden un olor desagradable.

Frutos:

De forma subglobuloso de 10 a 30 cms de diámetro.

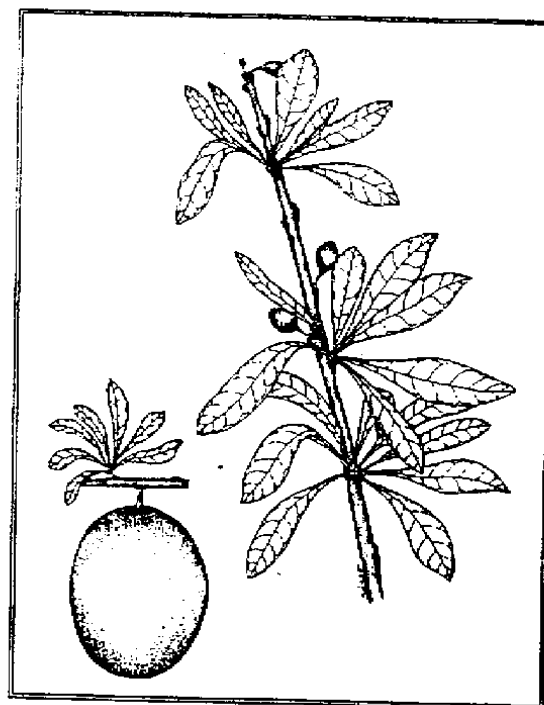
(9, 10,11,16,17,19,20)

ANEXO No. 3**DIBUJO DE LA PLANTA**

ANEXO No. 4DIBUJOS DE *CRESCENTIA ALATA* Y *CRESCENTIA CUJETE*
(Diferencias)

Crescentia cujete
(A) Hábito; (B) Fruto; (C) Ovario; (D) Flor; (E) Corola; y

C. alata
(F) Hábito; (G) Fruto



Crescentia cujete L.

ANEXO No. 5

SOLUCIÓN PARA EL PLETISMÓMETRO

La solución para el pletismómetro digital Ugo Basile Cat No. 7150 se prepara de la siguiente forma:

El compuesto de mojado provisto (4 a 5 ml/l) el cual minimiza gotas y la formación del menisco pra medidas más exáctas.

Cerca de 6 milimoles de un cloruro univalente de un metal alcalino (NaCl, LiCl, RbCl, Cs Cl). En la práctica 0.4 a 0.5 g/l de sal común (NaCl) en 0.3 a 0.4 para el reservorio de 0.7 litros.

Todo lo anterior se agrega al agua destilada. (24)

ANEXO No. 6

FARMACOLOGIA SOBRE FENILBUTAZONA

A. FENILBUTAZONA:

Son compuestos de origen sintético que derivan del pirazol compuesto heterocíclico con 2 átomos de nitrógeno y 3 de carbono, la fenilbutazona y su sal sódica soluble, deriva de su forma enólica, es una pirazolidinadiona, con dos funciones cetónicas y un grupo felino egregado.

Acción analgésica y antipirética: El efecto antipirético no se ha estudiado extensamente en seres humanos. Midiendo la acción analgésica por elevación del umbral al dolor puede observarse una analgesia con esas drogas semejantes a los salicilatos. En caso de dolor de origen no reumático, su eficacia como analgésico es inferior a la de los salicilatos. En pacientes con dolor somático producido por fracturas, en el postoperatorio y postparto se ha observado una evidente disminución de la intensidad del dolor como también en procesos reumáticos, artritis reumatoidea, osteoartritis o astrosis y fibrositis.

Acción antiinflamatoria: posee notables efectos antiinflamatorios y se ha usado frecuentemente para mejorar el rendimiento de caballos de carreras. Acción semejante se observa en procesos reumáticos crónicos, en los del tipo inflamatorio, como artritis reumatoidea, acción antirreumática, disminuyendo el dolor, la tumefacción, la rigidez articular. En el ataque agudo de gota, producen inhibición rápida del proceso inflamatorio agudo.

B. Toxicidad: Muchos pacientes casi no toleran la fenilbutazona y en 10 a 45% de los enfermos surge algún efecto adverso y es necesario interrumpir el uso del fármaco en 10 a 15% de las veces. Los trastornos pueden ser gastrointestinales, edemas, erupciones cutáneas, hepatitis, alteraciones nerviosas y hemáticas.

Los efectos adversos más graves incluyen úlcera péptica (o su reactivación) con hemorragia o perforación, reacciones de hipersensibilidad del tipo de enfermedad del suero. Los trastornos gastrointestinales consisten en náuseas, vómitos, diarrea.

Los edemas, se producen por retención de electrolitos y agua; no son muy frecuentes, pero dicha retención puede seguirse de insuficiencia cardíaca.

Erupciones cutáneas; eritematosas, papulosas, vesticulares y purpúricas, de origen alérgico, alergia tipos I, II, III.

Hepatitis con ictericia, puede ser grave.

Trastornos nerviosos; vértigos, alteraciones visuales, excitaciones o depresión nerviosa.

Trastornos sanguíneos; anemia, que puede ser aplástica, leucopenia,

trompocitopenia, agranulocitosis.


Es importante vigilar con enorme cuidado al paciente que recibe fenilbutazona y hacer estudios hemáticos frecuentes, también hay que pesarlo periódicamente para detectar oportunamente la retención excesiva de sodio y agua. El fármaco debe administrarse solo por lapsos breves que no excedan de una semana, e incluso, en tales casos, la incidencia de efectos adversos molestos de de casi 10%. El fármaco está contraindicado en sujetos con hipertención, disfunción cardíaca, renal o hepática, antecedentes de úlceras pépticas, disgrasias sanguíneas o hipersensibilidad al medicamento. Los efectos tóxicos con más frecuentes en ancianos. No es conveniente utilizarlos en niños menores de 14 años de edad.

- C. Modo y mecanismo de acción:** La acción antipirética posee un modo de acción central.

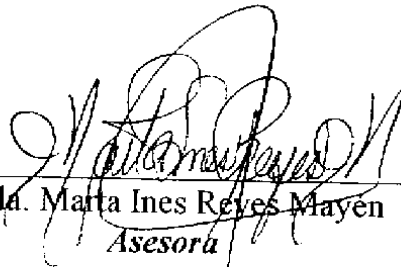
La acción analgésica es central y sobre todo periférica.

La acción antiinflamatoria es directa sobre los tejidos, disminución de la permeabilidad capilar, con intervención de las kininas. La fenilbutazona inhibe in vitro e in vivo la biosíntesis de las prostaglandinas PGE₂ PGF_{2x} (principales en la inflamación, también en las PGD₂ PGE, PGI₂ o prostaciclina, actuando sobre la enzima ciclooxigenasa o prostaglandina sintetasa, la inhibición enzimática se realiza en los focos inflamatorios y constituye el mecanismo esencial de la acción antiinflamatoria de la droga. Lo mismo sucede para la acción analgésica correspondiente al modo de acción periférico en que la fenilbutazona impide la sensibilización de los receptores dolorosos, producida por las prostaglandinas PGE₁, PGE₂, PGF₂, a la estimulación nerviosa provocada por la bradiquinina, la acción antipirética obedece a la inhibición de las síntesis de las prostaglandinas citadas anteriormente.


- D. Aplicaciones terapéuticas:** En la actualidad, la fenilbutazona no se considera en fármaco más indicado en trastorno alguno, aunque a veces es usado para combatir la gota aguda y en artritis reumatoide y cuadros similares.(25,26,27)



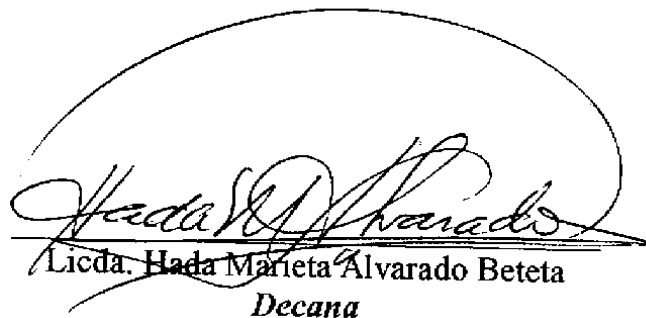
Profa. Dora Lizeth Solís de Díaz
Autora



Licda. Marta Ines Reyes Mayen
Asesora



Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana