

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del
botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G. L. M.
Perry. "clavo de olor". Ayacucho - 2013.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

Bach. PALOMINO AYME, María Angélica

AYACUCHO – PERÚ

2014

Acta de sustentación de tesis.

Bach. María Angélica Palomino Ayme.

R.D.N° 148-2014-FCB-D.

En la ciudad de Ayacucho siendo las cuatro de la tarde con diez minutos, del día diez de octubre del dos mil catorce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los profesores Mg. José Manuel Diez Macavilca como miembro y encargado de la presidencia del acto por Memorando N° 506 – 2014 – UNSCH – FCB. Blga. Laura Aucasime Medina, miembro, Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo en calidad de asesor. Mg. Emilio Germán Ramírez Roca como cuarto jurado y Blgo. Elbert Hermoza Valdivia secretario docente, con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de la tesis titulada **Actividad Antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de Syzygium aromaticum (L.) Merr.G.L.M. Perry. “clavo de olor”**. Ayacucho – 2013, presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica **María Angélica Palomino Ayme**, con la que pretende obtener el título profesional de **Químico Farmacéutica**.

Antes de que la sustentante exponga su tema y después de dar a conocer que el expediente se encuentra en orden, el Sr. presidente encargado Mg. José Manuel Diez Macavilca, da algunos alcances e indica que puede dar inicio a la sustentación en el tiempo de reglamento no mayor a cuarenta y cinco minutos, acto seguido la sustentante da inicio la exposición de su tema, iniciando con el agradecimiento a la Universidad y profesores que contribuyeron en su formación.

Concluido con la sustentación de su tema, el presidente encargado del acto invita al jurado hacer las preguntas o aclaraciones que vean por conveniente, a lo que la sustentante lo hace, dando respuesta y aclarando las preguntas.

Concluida esta sección se invita al público asistente y sustentante puedan desocupar el ambiente con la finalidad de que el jurado evaluador pueda deliberar y efectuar la calificación respectiva, teniendo como resultado el siguiente:

Miembro jurado	Exposición	Respuesta	Promedio
Mg. José Manuel Diez Macavilca	17	17	17
Blga. Laura Aucasime Medina	14	14	14

Mg. Emilio Germán Ramírez Roca	16	16	16
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17
		Promedio	16.

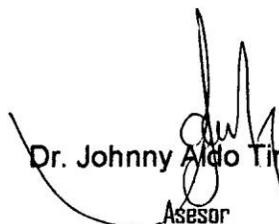
Realizada la calificación respectiva se tiene el promedio de dieciséis (16) que resulta ser Aprobatorio y con la finalidad de dar a conocer el resultado a la sustentante se invita su ingreso al auditorio, lo mismo que al público asistente. A continuación se procede con hacer entrega de la medalla de titulación y se continúa con la juramentación respectiva.

Concluye el Acto de sustentación siendo las seis y quince firmando los miembros del jurado evaluador al pie del presente acta en fe del cumplimiento de la sustentación.


Mg. José Manuel Díez Macavilca
Miembro - Presidente (e)


Blga. Laura Aucasime Medina
Miembro


Mg. Emilio Germán Ramírez Roca
Miembro


Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo
Asesor


Blgo. Elber Hermoza Valdivia.
Secretario docente

A Dios y a mi familia.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Máter*, forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por darme la oportunidad de estudiar y lograr mi desarrollo y formación profesional.

Al Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO, quien, en su condición de asesor de amplia experiencia, me orientó acertadamente para realizar el presente trabajo de investigación.

Al Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA, Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES y Blga. Laura AUCASIME MEDINA, quienes, como miembros del Jurado, han encaminado mi trabajo de investigación hasta la sustentación del mismo.

Asimismo, expreso mis agradecimientos para las personas que me apoyaron, solidariamente, en la realización de este trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del problema	3
2.2. <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor"	5
2.3. Flavonoides	8
2.4. Farmacología de la inflamación	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Ubicación	12
3.2. Materiales	12
3.3. Diseño Metodológico	13
3.4. Diseño Experimental	14
3.5. Análisis de Datos	15
IV. RESULTADOS	16
V. DISCUSIÓN	22
VI. CONCLUSIONES	28
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
IX. ANEXOS	33

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Diseño experimental de los tratamientos	15
Tabla 2	Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los botones florales <i>Syzygium aromaticum</i> "clavo de olor".	17

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Estructura química del Eugenol.	7
Figura 2	Volumen de inflamación de los diferentes tratamientos.	18
Figura 3	Variación del porcentaje de inflamación de los diferentes tratamientos.	19
Figura 4	Valores del porcentaje de inflamación.	20
Figura 5	Porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos del extracto hidroalcohólico (E.H.) del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> .	21

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1	Certificado de la clasificación taxonómica.	33
Anexo 2	Botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. G. L. M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.	34
Anexo 3	Identificación de metabolitos Secundarios.	35
Anexo 4	Medición de los Volúmenes de la pata inflamada.	36
Anexo 5	Biosíntesis de los eicosanoides.	37
Anexo 6	Flujograma experimental para la evaluación antiinflamatoria.	38
Anexo 7	Extracto hidroalcohólico concentrado.	39
Anexo 8	Esquema de la identificación de metabolitos secundarios <i>Syzygium aromaticum</i> .	40
Anexo 9	Análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación.	41
Anexo 10	Prueba de Tukey de los valores del porcentaje de inflamación.	42
Anexo 11	Matriz de consistencia	43

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como punto de partida a la inflamación que viene a ser la expresión de las alteraciones que se producen en respuesta a una lesión o agresión de un tejido. Con palabras latinas originales se describe como dolor, rubor, calor y tumor. Fisiológicamente, estos signos aparecen como consecuencia de las alteraciones locales de los vasos sanguíneos que conducen a una vasodilatación, al aumento de la permeabilidad vascular y a un aumento de la receptividad hística por los leucocitos. Esta investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", en los laboratorios del área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue adquirida en el Mercado Nery García Zárate de la provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho. Esta muestra fue macerada con alcohol etílico de 80°, obteniéndose un extracto hidroalcohólico que fue concentrado a sequedad en una estufa. La determinación cualitativa de metabolitos secundarios se realizó utilizando pruebas de precipitación y coloración. La actividad antiinflamatoria, se determinó mediante el ensayo de edema subplantar inducido por carragenina en 25 cobayos machos (*Cavia porcellus*), divididos en 5 grupos. El primer grupo recibió suero fisiológico, el segundo, diclofenaco de 20 mg/kg y los tres últimos recibieron 100, 200 y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico, respectivamente. Reportándose los resultados como volumen de inflamación y el porcentaje de inflamación. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto fueron fenoles y/o taninos triterpenos, esteroides, flavonoides, lactonas y/o cumarinas. Al analizar el volumen de inflamación y porcentaje de inflamación, se encontraron valores semejantes en el porcentaje de inhibición de la inflamación entre el extracto hidroalcohólico de 200 mg/kg (87,1%) y el diclofenaco de 20 mg/kg (87,9%). Entonces, se concluye que el extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" tiene actividad antiinflamatoria.

Palabras clave: *Syzygium aromaticum*, extracto hidroalcohólico, antiinflamatorio.

I. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad en el Perú nos ofrece grandes oportunidades para realizar trabajos de investigación referentes, principalmente, a las plantas que tienen propiedades curativas.

Nuestra región posee una amplia y rica diversidad en flora. Es por ello que, como profesionales de la salud, estamos en la obligación de incrementar el estudio de las especies vegetales para contribuir a su mejor aprovechamiento y beneficio para la población. Por tanto, se considera este estudio como un aporte a la medicina tradicional.¹

Los botones florales de *Syzygium aromaticum*, "clavo de olor", machacados se usan como enjuagues bucales y masticados para el dolor de muela. Se le atribuye la propiedad analgésica, anestésica, antiinflamatoria, antiemética, antioxidante, antiséptica, digestiva, etc.

En los extractos de las plantas, se encuentran sustancias como flavonoides, polifenoles que tienen capacidad antioxidante y presentan actividad antiinflamatoria.²

Los AINEs son fármacos más vendidos a nivel mundial, se estima que más de 30 millones de personas en el mundo reciben algún AINE diariamente. Los fármacos son recomendados en el primer peldaño de la escalera analgésica de la OMS.³

El presente trabajo sirve para disminuir el uso de los AINEs, puesto que los botones florales de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor" tiene un uso ampliamente difundido en el mundo y en el Perú. Estos botones florales se emplean para el tratamiento de inflamaciones y como aséptico. También, han sido investigados anteriormente de manera científica identificando los metabolitos secundarios como flavonoides y fenoles en gran cantidad y propiedades antiinflamatorias y gastroprotectoras. Es conocido por la relación existente entre las especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno que provocan estrés oxidativo con las enfermedades inflamatorias; por lo que los extractos de plantas que presentan sustancias como flavonoides, polifenoles y con capacidad antioxidante, que muchas veces presentan actividad antiinflamatoria.⁴

De acuerdo a ello se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".
- Evaluar la dosis óptima de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".
- Comparar la dosis con mayor actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" con el estándar diclofenaco.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la actualidad existen una diversidad de plantas que son utilizadas en la medicina tradicional y la ciencia moderna estudia los efectos terapéuticos de estas plantas para precisar, comparar y clasificar sus diversas propiedades. Asimismo, reconociendo sus principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades; determinando sus estructuras químicas; proponiendo modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y, finalmente, dando a conocer a la humanidad los resultados de los estudios.⁵

Los estudios de las actividades farmacológicas de las plantas, han dado mayor importancia a los que tienen actividad antiinflamatoria, antifúngica y antitumoral. Por ejemplo, en Rusia y Japón, se están llevando a cabo investigaciones exitosas que ya se encuentran en el mercado mundial; como los productos antitumorales que fueron aislados de plantas, una prueba de ello es el taxol, obtenido de extractos derivados de *Taxus brevifolia* que está dando muy buenos resultados en los estudios químicos.⁶ Actualmente, la medicina tradicional representa una opción importante de respuesta a las necesidades de atención a la salud en diferentes países de América Latina y el Caribe.

Esta participación ha sido reconocida por organizaciones internacionales de la salud como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la propia Organización

Panamericana de la Salud (OPS).⁷

También, podemos mencionar algunos trabajos realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH), así como en el ámbito nacional utilizándose preferentemente el método de edema subplantar inducido por carragenina. De estos estudios realizados, podemos citar a algunos que tienen un acercamiento con este tema de investigación:

- Ramírez (1997) realizó el estudio fitoquímico de *Gnaphalium viravira* "wira wira" y la determinación de su actividad antiinflamatoria, UNSCH-Ayacucho.⁸
- Tinco (1998) realizó el estudio fitoquímico de *Oenothera rosea* "yawar suqu", determinó también su actividad antiinflamatoria, UNSCH-Ayacucho.⁹
- Flores (2004) realizó la evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de *Verbena officinalis* "verbena", así como su actividad sinérgica con el extracto acuoso de *Oenothera rosea* "yawar suqu", UNSCH-Ayacucho.¹⁰
- Solano (2010) trabajó sobre la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Jungia paniculata* (DC) A. Gray. "matico de puna". UNSCH – Ayacucho.¹¹

Para los estudios mencionados se utilizó como agente edematógeno, solución de carragenina. Las conclusiones obtenidas en cada uno de los trabajos fueron satisfactorios, puesto que se ha demostrado una excelente actividad antiinflamatoria, incluso, en algunos casos, se ha llegado a superar los niveles antiinflamatorios de los estándares establecidos.

Syzygium aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" es una planta originaria del sudeste asiático, adaptada en el Perú hace mucho tiempo. Sus botones florales son aromáticos y tienen un gran parecido con la especie *Syzygium jambos* que crece en Cuba. En ambas plantas, el haz y el envés de la

hoja y la resina que contienen, en común, son de uso terapéutico en la medicina tradicional. Las investigaciones realizadas le atribuyen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.¹² Por tanto, el presente trabajo se basa en esta investigación y está enfocado a la determinación de la actividad antiinflamatoria del “clavo de olor”.

Estudios realizados del *Eucalyptus globulus*, árbol nativo de Australia que, también, crece y fue adaptado en el Perú, perteneciente a la familia *Myrtaceae* al igual que el *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor”, han determinado que ambas especies tienen un parecido por tener resinas y aceites esenciales, cuyas propiedades son terapéuticas.¹³

2.2. *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor”

2.2.1. Descripción Taxonómica

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA.

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE : ROSIDAE

ORDEN : MYRTALES

FAMILIA : MYRTACEAE

GÉNERO : *Syzygium*

ESPECIE : *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry.

SINONIMIA : *Eugenia caryophyllata* L.

N.V. : “clavo de olor”

FUENTE: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

2.2.2. Descripción botánica

El clavo de olor es un árbol tropical de aproximadamente 7 a 12 metros de alto; de tallos bastante ramificados y de corteza gris; de hojas simples alternas,

ovalanceoladas, puntiagudas, coriáceas de color verde lustrosas parecidas al laurel. Es muy aromático por la presencia de glándulas oleíferas que le confieren un tacto pegajoso.

Presentan inflorescencias en panícula que nacen en el ápice de las ramas tiernas; las flores son terámeras, actinomorfas y bisexuales, muy aromáticas; cáliz formado por 4 sépalos ligeramente soldado a la base y libres en el ápice; corola formado por 4 pétalos libres de un color rosado, androceo con numerosos estambres libres y gineceo formado por un ovario ínfero; el fruto es una baya pequeña, alargada y es comestible.

La parte útil del clavo de olor son los capullos florales que se asemejan a la cabeza del clavo y posee un aroma fuerte. Al masticar es ácido, picante y amargo que deja una sensación de frío en la boca, pero con la cocción su efecto se suaviza.

Se cosecha antes de que se abra la flor porque cuando se abre pierde su aroma, luego se saca a medio ambiente ó en cámaras de aire caliente hasta que se torne de un color marrón oscuro que es el estado en que se comercializa.

En el Perú existen 61 especies, muchas de ellas silvestres, según estudios realizados por el Dr. Mc Vaugh y publicado en Flora of Perú en 1958.¹⁴

2.2.3. Composición química.

La composición química de *Syzygium aromaticum* no debe incluir más de 5% de pedúnculos y frutos. Además, no debe contener más de 15% de humedad, 8% de cenizas totales, 2% de cenizas insolubles en HCL al 10% y 10% de fibra. Por otra parte, *Syzygium aromaticum* debe contener por lo menos 13% de esencia, la cual está constituida por 70-90% de eugenol, acetil-eugenol que es el acetato de su grupo fenólico y cariofileno, fuera de indicios de furfural y vainillina. El eugenol y su acetato se pueden determinar por el método del matraz de Cassia como se describe para la esencia de canela pues el acetil-

eugenol se saponifica también en el calentamiento con álcali.¹⁵

Como el acetil-eugenol falta en los pedúnculos y sólo existe en indicios en las hojas y frutos de la planta, puede ser interesante la identificación de eugenol y acetil-eugenol por cromatografía en capa fina sobre Silicagel G, aplicando 2 μ L de una solución alcohólica de la esencia al 10%. Como líquido de arrastre, la Farmacopea Helvética V. recomienda la mezcla de bencina de petróleo y piridina (19 + 1) con saturación de cámara. Después de secar la cromatoplaça 10 minutos al aire, se corre otra vez, se vuelve a secar al aire y a 85 °C el eugenol presenta una mancha violeta intensa que pasa al UV 365 nm al café claro, con Rf de unos 0,23 y el acetil-eugenol da, al revés, una mancha café que pasa al UV 365 nm al violeta con un Rf de unos 0,39.¹⁶

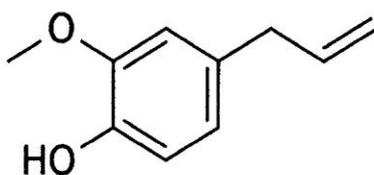


Figura 1. Estructura química del Eugenol

2.2.4. Hábitat y distribución geográfica

El Syzygium aromaticum es una planta nativa del sudeste asiático (Islas Molucas). Se cultiva en lugares con climas tropicales marítimos como Indonesia, que es el primer productor a nivel mundial, Madagascar, Malasia, Tanzania, América del Sur y el Caribe. En Guatemala se cultiva en el norte del país. En Perú se cultiva en la Costa y Selva, crece desde el nivel del mar hasta los 900 metros de altitud.¹⁷

2.2.5. Usos tradicionales

Se usa como especia para condimentar las comidas, en la preparación de licores, en perfumería en la preparación de pastas dentales, jabones, cosméticos y perfumes; y como medicina por sus propiedades carminativas gracias al aceite

esencial que contiene fundamentalmente el eugenol.¹⁸

Los botones florales machacados se usan en enjuagues bucales y masticados para el dolor de muela. El fruto se usa para tratar afecciones digestivas, respiratorias y cardíacas. El polvo y decocción se usa interna y externamente en el tratamiento de induraciones, verrugas, tumores y ciertas formas de cáncer. La tintura se usa para tratar afecciones digestivas y bajar la fiebre.¹⁹

Se le atribuye propiedades analgésicas, anestésicas, antieméticas, antioxidantes, antiséptica, aromática, carminativa, desodorante, digestiva, estimulante, estomáquica, expectorante, rubefaciente, tónica y vermífuga. Usado como saborizante en la fabricación de condimentos, repostería y en la industria farmacéutica.¹⁹

2.3. Flavonoides

Los flavonoides son los pigmentos vegetales más numerosos y se encuentran ampliamente distribuidos entre las plantas, contribuyendo a la coloración de frutos, flores y hojas. A las especies que contienen flavonoides se les atribuye varias propiedades farmacológicas, como agentes antiinflamatorios, protectores de la pared vascular, venotónicos antioxidantes, antiespasmódicos, antihemorrágicos, diuréticos, antiurémicos y antibacterianos o antivirales.²⁰

2.4. Farmacología de la inflamación

2.4.1. Concepto de inflamación

Es una respuesta protectora de tejidos de organismo ante una irritación o lesión. La inflamación puede ser aguda o crónica sus signos cardinales son enrojecimiento (rubor), calor, tumefacción (tumor) y dolor, acompañado de impotencia funcional. La histamina, las quininas y otras diversas sustancias median en el proceso inflamatorio.²¹

La zona afectada se torna roja y caliente debido a un aumento del flujo de sangre, se produce tumefacción e hipersensibilidad como resultado de la

infiltración de los tejidos locales por líquidos, lo que origina un aumento de tensión de la piel. En el dolor local también participan ciertas sustancias químicas producidas por el organismo. Dentro del área inflamada se acumulan células especiales del sistema inmune como leucocitos, macrófagos y linfocitos. Los linfocitos destruyen el tejido dañado y emite señales a los macrófagos, quienes ingieren y digieren las sustancias extrañas y el tejido muerto. En algunas enfermedades este proceso puede tener carácter destructivo para el huésped. El tratamiento depende de la causa de la inflamación.²²

Los eicosanoides son liberados en respuesta a múltiples estímulos agresivos y contribuyen a los síntomas de la inflamación en sus primeras dos fases. La vasodilatación aguda, acompañada de un incremento de la permeabilidad y la subsiguiente infiltración de leucocitos y células fagocíticas. Estas células a su vez, convenientemente estimuladas, liberan más eicosanoides. Los derivados de la vía de la ciclooxigenasa (fundamentalmente, las prostaglandinas del tipo E y la PGI₂) favorecen la vasodilatación prolongada y aumentan el flujo sanguíneo en la microcirculación, al mismo tiempo que potencian la acción de otros mediadores, como bradicinina y serotonina, capaces de incrementar la permeabilidad vascular y activar las terminaciones nerviosas. Los derivados de la vía de la lipooxigenasa se forman y son liberados en neutrófilos, eosinófilos y macrófagos convenientemente estimulados. El LTB₄ ejerce una poderosa actividad quimiotáctica que favorece la concentración de neutrófilo, su desgranulación, agregación y adherencia a las paredes de las vénulas y capilares.²³

2.4.2. Mediadores de la inflamación

Entre los mediadores tenemos la histamina, serotonina, cininas, prostaglandinas, leucotrienos y entre otros.

Metabolitos del ácido araquidónico: Prostaglandinas y leucotrienos.

El ácido araquidónico (AA) es un ácido graso poliinsaturado de 20 átomos de carbono (ácido 5, 8, 11,14 – eicosatetraenoico) que procede directamente de la dieta o de la conversión a partir del ácido graso esencial, el ácido linoleico. Se libera de los fosfolípidos por activación de las fosfolipasas celulares a través de estímulos mecánicos, químicos y físicos, o por acción de otros mediadores.

La vía de la ciclooxigenasa permite la generación de prostaglandinas que incluye la PGE₂, PGD₂, PGα, PGI₂ (prostaciclina) y tromboxano (Tx₂). Todas estas se forman por acción de una enzima específica. El TXA₂ es un potente agente de agregación plaquetaria y vasoconstricción que presenta poca estabilidad y se convierte rápidamente en su forma inactiva TXB₂. El endotelio vascular posee la agregación plaquetaria.²⁴

En la vía de la lipooxigenasa, la enzima predominante en los neutrófilos es la 5-lipooxigenasa, y el principal producto es el 5-HETE, con capacidad quimiotáctica para neutrófilos que es convertido en una familia de compuestos denominados leucotrienos como el LTB₄, potente agente quimiotáctico que induce a agregación de neutrófilos, el LTC₄, LTD₄ Y LTE₄ que producen vasoconstricción, broncoespasmo y aumento de la permeabilidad vascular.²⁴

2. 4.3. Mecanismo de acción de la actividad antiinflamatoria

El efecto antiinflamatorio de los AINEs ha sido atribuido a la capacidad de estos fármacos por inhibir la ciclooxigenasa, enzima que cataliza la síntesis de prostaglandina, prostaciclina y tromboxano a partir del ácido araquidónico. Si bien este es uno de los mecanismos importantes para la producción de los efectos terapéuticos y muchas de las manifestaciones adversas, no es el único, pues se han observado fármacos que tienen la misma capacidad inhibitoria de la COX y diferente potencia antiinflamatoria.²⁵

Otro de los posibles mecanismos involucrados en los efectos de los AINEs está

la inhibición del óxido nítrico sintetasa, cuya consecuencia es la disminución de la síntesis de óxido nítrico, inhibición de la migración leucocitaria, disminución de la producción de leucotrienos e inhibición de la fosfodiesterasa, con la consecuente disminución de c-AMP.²⁶

2.4.4. Clasificación de antiinflamatorios no esteroideos (Aines)

Pueden clasificarse, según su actividad sobre las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2).²⁷

2.4.5. Inhibidores COX no específicos

Actúan por igual sobre COX-1 y COX-2, entre los que podemos considerar la mayoría de AINEs clásicos: Naproxeno, Ibuprofeno, indometacina.

2.4.6. Inhibidores específicos COX-1

Estos fármacos inhiben, la actividad de COX-1, sin afectar, en forma medible, la actividad de COX-2, la aspirina es el único representante de este grupo ya que en dosis muy pequeñas inhibe la actividad de COX-1 en las plaquetas.

2.4.7. Inhibidores preferenciales de la COX-2

Tiene mayor actividad sobre COX-2 que COX-1, en evaluaciones bioquímicas, se requieren concentraciones de 2 a 100 veces mayores para inhibir COX-1 que las requeridas para inhibir COX-2. Entre estos podemos considerar al Meloxicam que posee considerable actividad inhibitoria de COX-1, comparado con los nuevos agentes COX-2 selectivos.

2.4.8. Inhibidores específicos COX-2 pero no COX-1

En evaluaciones bioquímicas se requieren concentraciones superiores a 100 veces para inhibir COX-1 que las requeridas para inhibir COX-2 como el Celecoxib y Etoricoxib.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Farmacología y Farmacognosia del área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses mayo a octubre del 2013.

3.2. Materiales

3.2.1. Población

Syzygium aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” que es procedente del mercado Nery García Zárate de la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra vegetal

Un kilogramo (1 kg) de botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr G.L.M. Perry. “clavo de olor” tomados al azar (Anexo 2). La identificación botánica fue realizada por la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

3.2.3. Animales de experimentación

Los 25 cobayos, *Cavia porcellus*, de 350 a 450 g de peso, con 3 a 4 meses de edad, aproximadamente, adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) de la ciudad de Ayacucho, con un mes de anticipación para su acondicionamiento respectivo.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección, identificación y selección de la muestra

Syzygium aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" fue adquirido del mercado Nery García Zárate, luego la muestra fue triturada con ayuda de un mortero.

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

Se tomó 1000 g de la muestra seca y triturada (molida) y se maceró en un frasco de color ámbar con alcohol de 80° (se agregó alcohol hasta cubrir la muestra) por un lapso de 2 semanas, aproximadamente. Durante el proceso el frasco fue agitado diariamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente con la muestra.

Se separó el solvente de la muestra por medio de filtración. A continuación se colocó la solución en platos de cerámica y se llevó a estufa por un lapso de 5 días controlando la temperatura a 32 °C, hasta obtener el extracto, según los pasos propuestos por Miranda en el año 2000 (Anexo 7).

3.3.3. Identificación de los metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación se realizaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda (Anexo 8).

3.3.4. Preparación de la concentración de la solución de extracto hidroalcohólico

Se preparó la solución del extracto hidroalcohólico al 80%. El extracto seco fue disuelto en agua destilada al 4% del cual se preparó las concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg. Luego se prosigue a dosificar a los cobayos según su peso.

3.3.5. Determinación de actividad antiinflamatoria

El método usado fue el edema plantar inducido en cobayos por inyección de carragenina en la pata posterior. Entre los agentes inflamatorios que se usan en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con mayor frecuencia es la

carragenina, por producir un edema que es menos modificada por factores ajenos propiamente característicos de la inflamación y guarda buena relación con la actividad antiinflamatoria en clínica.²⁸

3.3.6. Procedimiento experimental

- Se pesó a los cobayos y se colocaron en jaulas individuales.
- Se depiló la pata posterior derecha y luego se marcó con plumón indeleble para facilitar la medición del volumen de la pata.
- Se midió el volumen inicial de la pata posterior derecha con el pletisnómetro manual.
- Se aplicó vía oral, con ayuda de una sonda adaptada a un medidor de volumen, las concentraciones de los extractos hidroalcohólico (dosificadas según el peso de cada cobayo), así como se aplicó vía oral el control y estándar.
- Después de media hora se aplicó 0.05 mL de la solución de carragenina al 1% en la zona subplantar de la pata derecha rasurada previamente.
- Se realizan mediciones sucesivas del volumen de inflamación de la pata durante 7 horas continuas con ayuda del pletisnómetro. (Anexo 4).

$$\% \text{ inflamación} = \frac{V_i - V_0}{V_0} \times 100$$

V_i = Volumen de inflamación de la pata.

V_0 = Volumen normal (antes de aplicar la carragenina).

3.4. Diseño experimental

La determinación de la actividad antiinflamatoria se realizó utilizando un diseño completamente randomizado con estímulo creciente. Los ensayos se realizaron comparando 5 tratamientos (Dosis: 100, 200 y 400 mg/kg, control y estándar). Cada tratamiento estuvo constituido por 5 repeticiones a las que se administraron las dosis respectivas, el diclofenaco 20 mg/kg y suero fisiológico.

Tabla 1: Diseño experimental de los tratamientos.

Grupos	Suero	Diclofenaco	Tratamiento extracto hidroalcohólico		
	fisiológico	20 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
grupo 1	x				
grupo 2		x			
grupo 3			x		
grupo 4				x	
grupo 5					x

3.5. Análisis de datos

Se calculó el promedio del porcentaje de inflamación, luego la desviación estándar y el coeficiente de variación. Luego se determinó la diferencia significativa entre los tratamientos empleados, y se evaluó a través del análisis de Varianza (ANOVA) con el nivel de significación de 0,05.²⁹

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el Extracto Hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
Catequinas	Catequinas	++	Verde carmelita
Resinas	Resinas	++	Precipitado
Azúcares reductores	Ensayo de Fehling	++	Coloración roja
Lactonas y/o cumarinas	Reactivo de Baljet	++	Coloración roja
Triterpenos y/o esteroides	Reactivo de Lieberman Burchard	++	Verde intenso
Saponinas	Prueba de espuma	++	Espuma 2mm
Taninos y/o fenoles	Reactivo cloruro férrico	+++	Rojo vino
Quinonas	Reactivo de Borntrager	++	Coloración roja
Flavonoides	Prueba de Shinoda	+++	Coloración roja

Leyenda :

(+++) : Abundante

(++) : Moderado

(+) : Leve

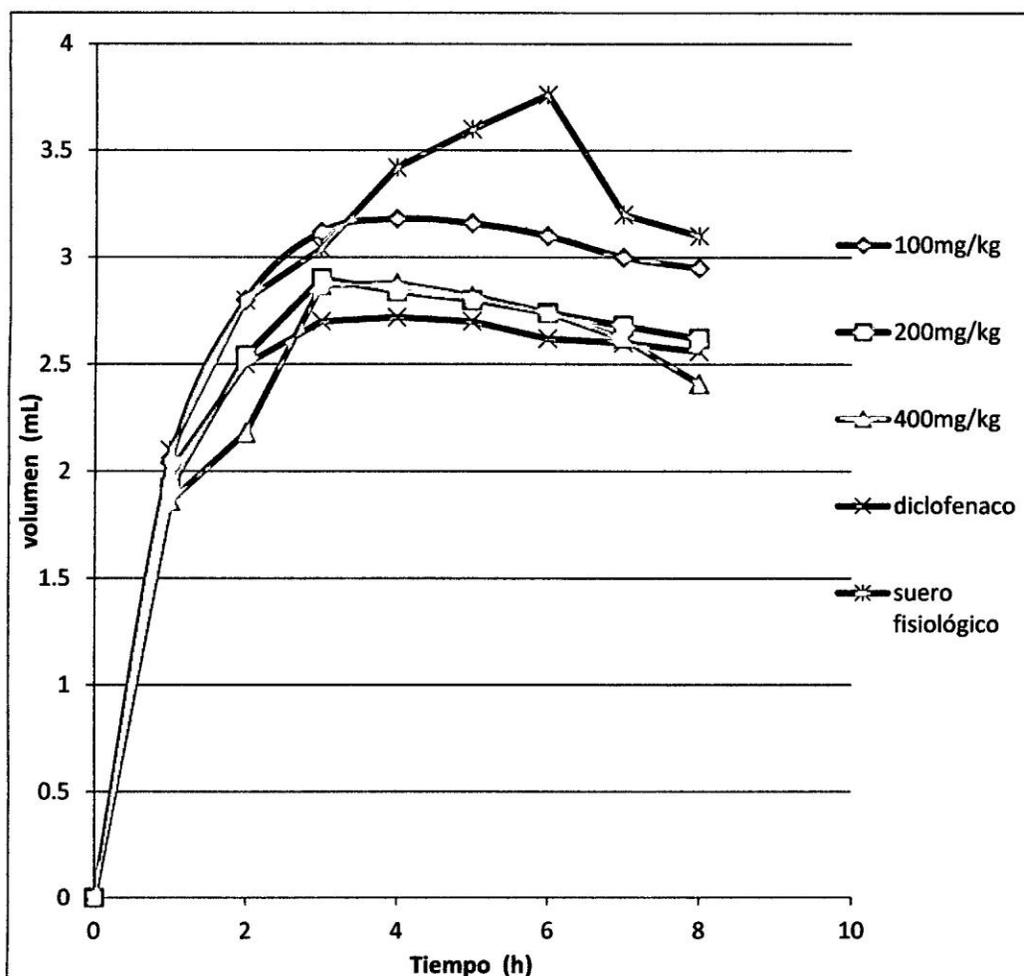


Figura 2. Volumen de inflamación en función del tiempo por la actividad de los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico del botón floral *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

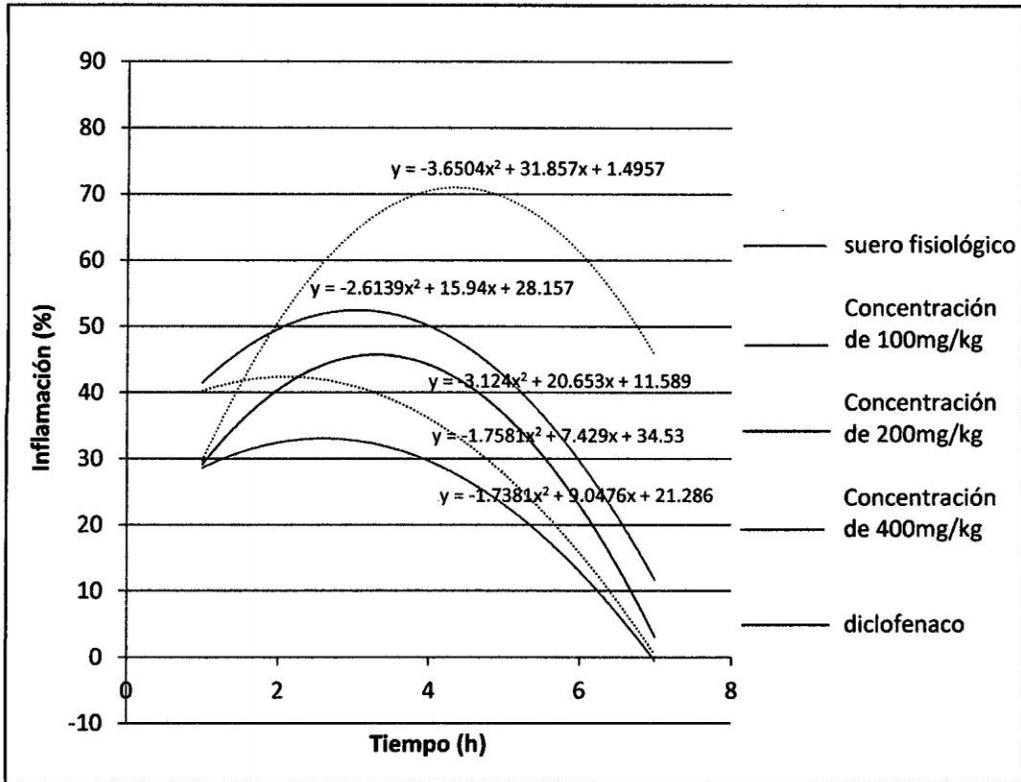


Figura 3. Variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

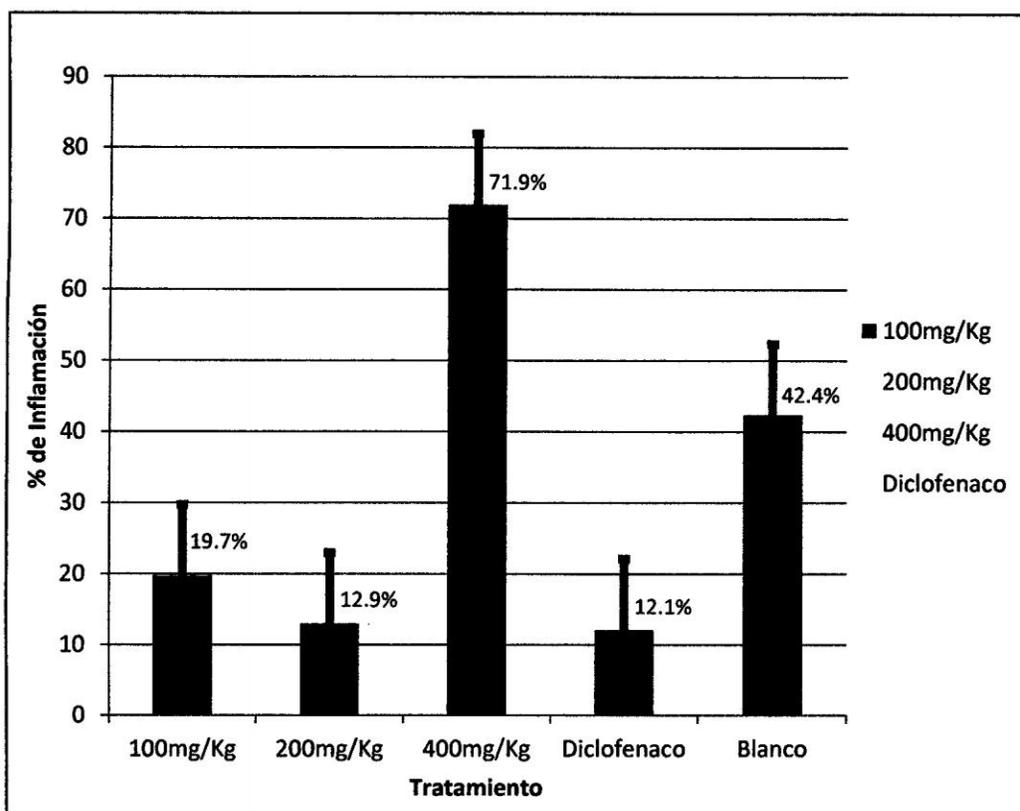


Figura 4. Porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

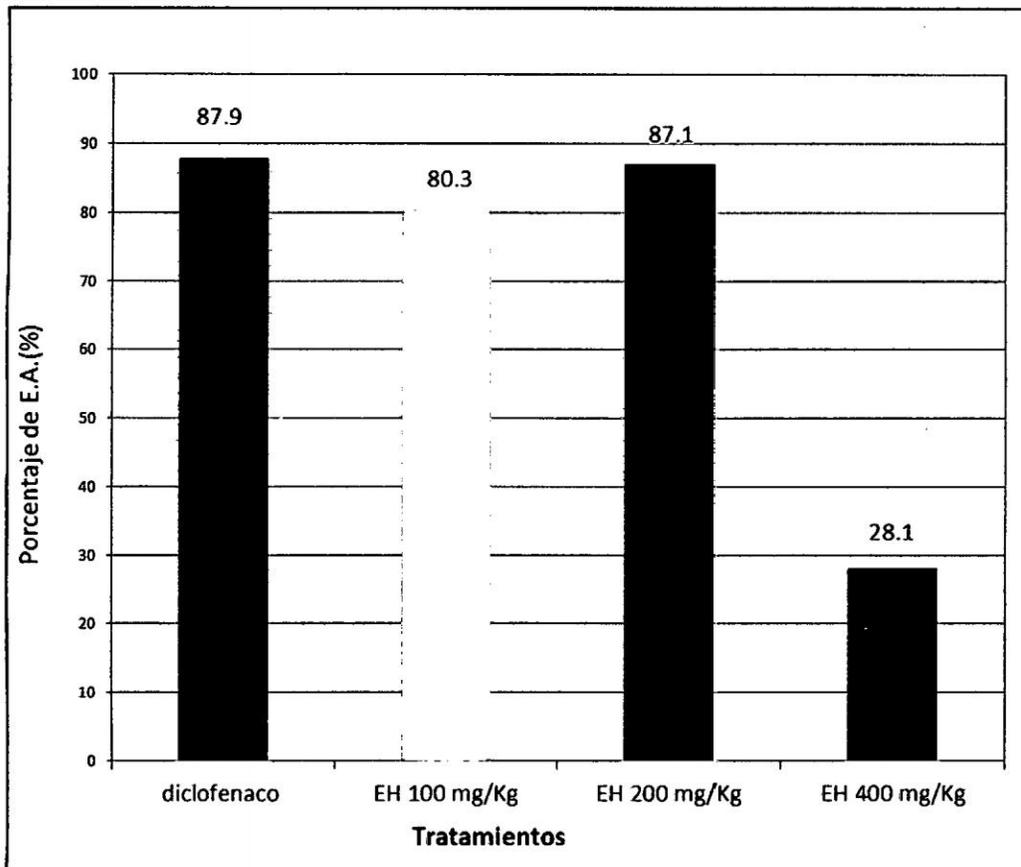


Figura 5. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos del extracto hidroalcohólico (E.H.) del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

V. DISCUSIÓN

En la extracción de los metabolitos secundarios se emplea extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", porque son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga, usando el método Miranda. Como resultado se encontraron catequinas, resinas, azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, quinonas y flavonoides.³⁰

Los flavonoides se dividen en aglicones y heterósidos. Los aglicones son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas, y los heterósidos son solubles en agua y mezclas hidrosoluble.³¹ La esencia de clavo produce una excitación fugaz seguida de cierta embriaguez con disminución de la sensibilidad; débiles dosis como analgésicas, y fuertes, anestésica.

La extracción del principio activo del botón floral del *Syzygium aromaticum* se realizó con alcohol de 96° diluido al 80% por maceración para garantizar la mayor extracción de metabolitos posibles y luego se eliminó el solvente llevando el extracto a sequedad por un lapso de 7 días a 32 °C para dar mayor estabilidad al extracto seco (Anexo 7).

El Anexo 3 responde a los resultados de la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Syzygium*

aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Se realizó mediante una marcha fitoquímica según el método de Miranda. Los resultados del ensayo demuestran la presencia de compuestos.

Muchos flavonoides y fenoles acaban con la inflamación. La explicación posible es la actividad inhibitoria de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandina componente responsable de la actividad antiinflamatoria³². Numerosas propiedades, comprobadas in vitro, pueden explicar la actividad de los flavonoides inicialmente se ha postulado que actúan sobre la reducción del ácido dehidroascórbico vía glutatión sobre el cual se comportan como donantes de hidrógeno. En la actualidad se opina más globalmente que estos fenoles captan los radicales formados en diversas circunstancias: anoxia (ausencia de oxígeno), inflamación y autooxidación lipídica.³³

La Figura 2 es la representación del comportamiento de la diferencia de volúmenes de inflamación para los distintos tratamientos. La medición se realizó por un lapso de 7 horas. La misma figura indica que el grupo control llega a tener mayor inflamación en la tercera hora, para los distintos tratamientos, subiendo hasta la sexta hora, luego en el tiempo restante, el volumen inflamado baja de manera constante. Para la dosis de 400 mg/kg el nivel de inflamación llega a su nivel máximo en la tercera hora y en lo sucesivo de las horas el volumen inflamado baja de manera constante. Para la dosis de 200 mg/kg, se observa que el nivel de inflamación es casi paralelo con lo del estándar (diclofenaco); por ello, esta dosis de 200 mg/kg, probablemente, es la dosis con mayor eficacia.

La Figura 3 representa la variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", cuya interpretación es la siguiente: La curva que tiene mayor acercamiento a la curva estándar

correspondiente al diclofenaco es la que pertenece a la dosis de 200 mg/kg, estableciéndose de esta manera la variación con mayor efectividad antiinflamatoria.

Para el estudio farmacológico se empleó el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" y el método utilizado fue descrito por Winter y Cols, posteriormente modificado por Sughisita y Cols. Para la determinación fue el de edema subplantar inducido por carragenina. Se utilizaron cobayos, *Cavia porcellus*, a los cuales se les indujo la inflamación por inyección de carragenina en la zona subplantar de la pata posterior.³⁴ Los extractos alcohólicos de los botones florales, administrados por vía oral, fueron evaluados utilizando el test del edema de la pata subplantar inducida por carragenina y se comprobó la actividad antiinflamatoria que ha sido reportado por la población. La explicación científica de porqué es, efectivamente, útil, es que el clavo de olor posee una proporción alta de una sustancia llamada eugenol.

Este es un modelo sensible de antiinflamatorios no esteroideos y es, por esto, ampliamente utilizado en la investigación de nuevos agentes. El modelo de la carragenina se presta bien al estudio de la acción de antiinflamatorios esferoidales e inhibidores de la ciclooxigenasa, como la aspirina, que bloquean la síntesis de prostaglandinas.³⁵

En Japón se realizó estudios en los extractos de especias, verduras y frutas que inhiben 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) inducida por edema de la oreja en ratones. Cerca de 100 extractos de metanol obtenidos de las especias, verduras y frutas se analizaron y sus ratios de inhibición calculados. En general, los extractos de especias eran inhibidores más eficaces que los extractos vegetales y de frutas. Los extractos de metanol de salvia, stevia, canela, cúrcuma, menta, espinacas, berros, tomate y plántulas de rábano marcadamente inhibida la actividad inflamatoria inducida por TPA en ratones. Dos compuestos

activos, humulona y lupeol 3-palmitato fueron separados de salvia y stevia, Se concluye que *Syzygium aromaticum* presenta la actividad antiinflamatoria respectivamente.³⁶

Estudios realizados en Cuba de la especie "*capraria biflora*" la fracción de acetato de etilo fue evaluada por cromatografía de capa delgada, permitiendo comprobar la presencia de al menos dos flavonoides tipo flavonas. Estos resultados comprueban el efecto antiinflamatorio de la planta, lo cual corrobora su uso popular en enfermedades asociadas a procesos inflamatorios, además permiten atribuir dicho efecto a los flavonoides presentes en la planta aunque no descarta la implicación de otros metabolitos.³⁷

El estudio realizado sobre "Actividad antiinflamatoria y antioxidante de la *Jungia paniculata*", demuestra que los extractos tienen una alta actividad y que contiene altos niveles de polifenoles totales y flavonoides y la prueba de actividad antiinflamatoria demuestra que en la tercera hora después de administrar el extracto de metanol al 50% de *jungia paniculata*, en una dosis oral de 500 mg/kg, se observa la supresión significativa de edema de planta de rata inducido por carragenina. Por lo que se presume que los botones florales poseen propiedades antiinflamatorias que confirman el uso de estos botones en la medicina tradicional como antiinflamatoria.³⁸

Al realizar este trabajo se observa que el comportamiento de las dosis 200 y 100 mg/kg produce inhibición de la inflamación desde la tercera hora, bajando progresivamente a lo largo de las horas restantes.

Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser los causantes de la antiinflamación porque son absorbidos por las membranas celulares y las protegen de la acción de los radicales libres. Estos son liposoluble e hidrosolubles, es decir, se disuelven en lípidos o en agua; además acaban con la inflamación, las alergias y aumentan la efectividad de las células "natural killer"

del sistema inmunológico. También, ejercerían su acción antiinflamatoria al inhibir las actividades enzimáticas del metabolismo del ácido araquidónico por la vías de la 5- lipooxigenasa, así como por su actividad antiproteolítica al inhibir algunas proteasas de la matriz.³⁹

La Figura 4 muestra el porcentaje de inflamación en función de los tratamientos donde observamos que posee menor inflamación para el diclofenaco (12,1%), seguido del tratamiento de los extractos de *Syzygium aromaticum* de 200 mg/kg (12,9%) y 100 mg/kg (19,7%) y muy elevada para el de 400 mg/kg (71,9%).

La Figura 5 presenta el porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos del extracto hidroalcohólico (E.H.) del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", mostrando, claramente, la acción antiinflamatoria eficaz de la dosis E.H. 200 mg/kg (87,1%) que tiene bastante proximidad a la eficacia del diclofenaco (87,9%).

El análisis de varianza (ANOVA) supone que la hipótesis nula de la igualdad de medias en los diferentes grupos es cierta, podríamos decir que todas las observaciones pueden considerarse que provienen de un único grupo cuya media y variabilidad es la misma que la de cualquiera de los grupos separados.

Realizando la prueba de ANOVA se obtiene una significación baja (menor a 0,05) rechazaremos la hipótesis nula y se identifica en que grupos se producen diferencias.

Se realizó el análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación donde se presenta un valor de significancia igual a cero (0,000) anexo 09 por lo tanto se concluye que existen diferencias significativas entre los tratamientos de anti inflamación en un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

Se realizó la prueba de Tukey (Anexo 10), donde se realiza las combinaciones de los tratamientos y comprobamos que los tratamientos de 100 y 200 mg/kg no difiere significativamente de la media estándar (diclofenaco) con un nivel de

confianza de 95 % ($p < 0,05$). Representa la prueba de las mínimas diferencias significativas para las medias del porcentaje de inflamación de los tratamientos donde ofrece una clasificación en subgrupos basados en el grado parecido existente entre las medidas de 100 y 200 mg/kg no difieren significativamente de la medida del estándar (diclofenaco):

En la investigación se evaluó la actividad de extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum*, demostrándose que los resultados del porcentaje de inflamación de estándar diclofenaco son estadísticamente similares a los resultados obtenidos con los tratamientos de 100 y 200 mg/kg.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico del botón floral *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", tiene actividad antiinflamatoria a dosis de 100 y 200 mg/kg, en el modelo de inflamación de edema subplantar inducido por carragenina en cobayos *Cavia porcellus*.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr, G.L.M. Perry. "clavo de olor", son: flavonoides, quinonas, catequinas, resinas, saponinas, taninos y/o fenoles, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y azúcares reductores.
3. La mejor actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* fue a la dosis 200 mg/kg.
4. Se encontró valores semejantes en el porcentaje de inhibición de la inflamación entre el extracto hidroalcohólico de 200 mg/kg (87,1%) y el diclofenaco (87,9%).

VII. RECOMENDACIONES

1. Cuantificar los principios activos específicos, responsables del efecto antiinflamatorio, antioxidante y gastroprotector del botón floral de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor", así como el aislamiento de los metabolitos secundarios presentes en la especie y la elucidación de sus estructuras moleculares.
2. Realizar el estudio de toxicidad de la "dosis letal" de *Syzygium aromaticum*, para determinar la dosis óptima del extracto hidroalcohólico.
3. Realizar estudios farmacológicos sobre la actividad analgésica y antiséptica ya que el antiviral del botón floral de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor", en el uso tradicional, presenta estas propiedades.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villavicencio O. La fitoterapia a través del tiempo [Artículo en línea]. Programa Nacional de Medicina Complementaria PRONAMEC, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 2009. [acceso 15 de octubre de 2010]. Disponible en: <http://www.maca-peruana.com/análisis.HTML>.
2. Duke J.A. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Panamá: Boca Ratón, CRC Press; 1995.
3. Alvarado J. Apuntes de Farmacología 4. Perú: Apuntes Médicos del Perú; 2009.
4. García H. Plantas curativas mexicanas. México: Panorama; 1991.
5. Lock de Ugaz O. Análisis Fitoquímico y Metabolitos Secundarios. [Monografías en línea]. Programa Nacional de Medicina Complementaria-PRONAMEC, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 2009. [acceso 13 de octubre de 2013]. Disponible en <http://maca-peruana.com/análisis.htm>.
6. Planas S. Caracterización antitumoral de plantas medicinales peruanas. Actas de sesión de investigación de avance CONCYTEC Y ACNICYT. Vol. 1. Lima, Perú; 1993.
7. Nigenda G, Flores G, López S, Nuñez E. La Práctica de la Medicina Tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. México; 2001.
8. Ramírez J. Estudio Fitoquímico de *Gnaphalium viravira* "wira wira" y la determinación de su actividad antiinflamatoria. [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 1997.
9. Tinco J. Estudio Fitoquímico de *Oenothera rosea* "yawar suqu" y la determinación de su actividad antiinflamatoria. [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 1998.
10. Flores L. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de *Verbena officinalis* "verbena". [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
11. Solano N. Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junjia paniculata* (DC) A. Gray. "matico de puna". [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2010.
12. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universitaria; 1995.
13. Thomson W. Las plantas medicinales. Barcelona, España: Blume; 1990.
14. Robineau L. Hacia una Farmacopea Caribeña. Honduras, Santo Domingo: ENDA – Caribe; UNAH; 1991.
15. Huang KC. The pharmacology of Chinese Herbs. China: Boca Ratón, CRC Press; 1993.
16. Zheng GQ, Kenney PM. Lam. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticancerigenic agents. London: J. Edit Nat Prod; 1992.
17. Hussain HSN, Deeni II. Plants in Kano ethnomedicine: Screening for antimicrobial activity and alkaloids Int. Pharmacog. India; 1998.
18. Kawasaki L, Bruce K, Holst. Revista peruana. Vol. 3. Lima, Perú; 2006.
19. Jackson BP, Snowdon DW. Atlas of Microscopy of medicinal Plants, Culinary Herbs and Spic. London: Boca Ratón, CRC Press; 1990.
20. Kuklinski C. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Omega S.A; 2003.

21. Fuente G. Fisiopatología de la inflamación. [Artículo en línea]. [acceso 02 de febrero de 2010]. Disponible en <http://www2.udec.cl/~gdelaflue/web/Inflama.pdf>.
22. Taylor M, Dawson J. Lo esencial en Farmacología. 2ª ed. España: Dan horton – szar; 2001.
23. Flores J. Farmacología de la inflamación. 2ª ed. Barcelona, España: Ediciones científicas y técnicas S.A; 1992.
24. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Patología Estructural y Funcional. Sexta edición en español. Madrid, España: Elsevier; 2000.
25. Litter M. Compendio de Farmacología. 4ª ed. Buenos Aires, Argentina: El Ateneo; 1992.
26. Ludeña M. Analgésico, antipirético y antiinflamatorios no esteroideos AINEs. Universidad Cayetano Heredia. Facultad Estomatología. Lima, Perú; 2003.
27. Palomino E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Acalium alva engleriana* "raíz althea" en cobayos. [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
28. CYTED, Métodos farmacológicos para validación de plantas medicinales. Proyecto X-4. Perú; 2001.
29. Paniagua J. Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema y gel elaborados a base del extracto atomizado de la corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. "uña de gato". [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2008.
30. Bézanger – Beauquesne L, Pinkas K, Torck M. Les plantes dans la Therapeutique Moderne. Paris, Francia: Maloine; 1991.
31. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. La Habana, Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana; 1996.
32. Bisset NG. Herbal Drug and phytopharmaceutical. London: Boca Ratón; 1994.
33. Artech A. Fitoterapia. Vademecum de prescripción Bilbao. India: CITA; 1992.
34. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Antiinflamatorio testing methods: Comparative evaluation of mice and rats J. Pharm Dyn. Colombia, Cartagena; 1991.
35. Mahmoud I, Alkofahi A, Abdelaziz A. Mutagenic and toxic activitis of several spices and some Jordanian medicinal plants. Jordania: J. Pharmacog; 1992.
36. Yasukawa K, Yamaguchi A, Arita J, Sakurai S, Ikeda and Takido M. Inhibitory effect of edible plant extracts on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ear oedema in mice. Japón; 1993.
[Acceso 01 de febrero de 2006]. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.2650070218/abstract>.
37. Vicet L, Acosta S, López A, García D. Actividad antiinflamatoria de flavonoides presentes en la capraria biflora. Cuba;1995.[Acceso 03 marzo de 2009]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_s_02/F%20Produccionesvol36_s_02/F%20Producciones%20Plantas%20y%20Prod.%20Natya.pdf.
38. Casado R, Lanada A, Calvo J. Anti inflammatory and antioxidant activities of *jungia paniculata*. [Tesis de doctorado]. Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica. España: Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra; 2010. [acceso 18 de octubre del 2011]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20673177>.

39. Martínez S. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes- Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León. España; 2002. [acceso 20 de marzo del 2011]. Disponible en: <http://www.recursosdeenología.com/docs/2002/2002>.

Anexo 1

Certificado de la clasificación taxonómica de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.
G.L.M. Perry "clavo de olor". Ayacucho – 2013.



E. JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGUENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS FISIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que: la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. María Angélica, PALOMINO
AYME, ha solicitado la certificación de una muestra vegetal para trabajo de
tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist, A. 1980, y es como sigue.

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	MYRTALES
FAMILIA	:	MYRTACEAE
GENERO	:	<i>Syzygium</i>
ESPECIE	:	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr.G.L.M. Perry.
SINONIMIA	:	<i>Eugenia caryophyllata</i> L.
N.V.	:	"clavo de olor"

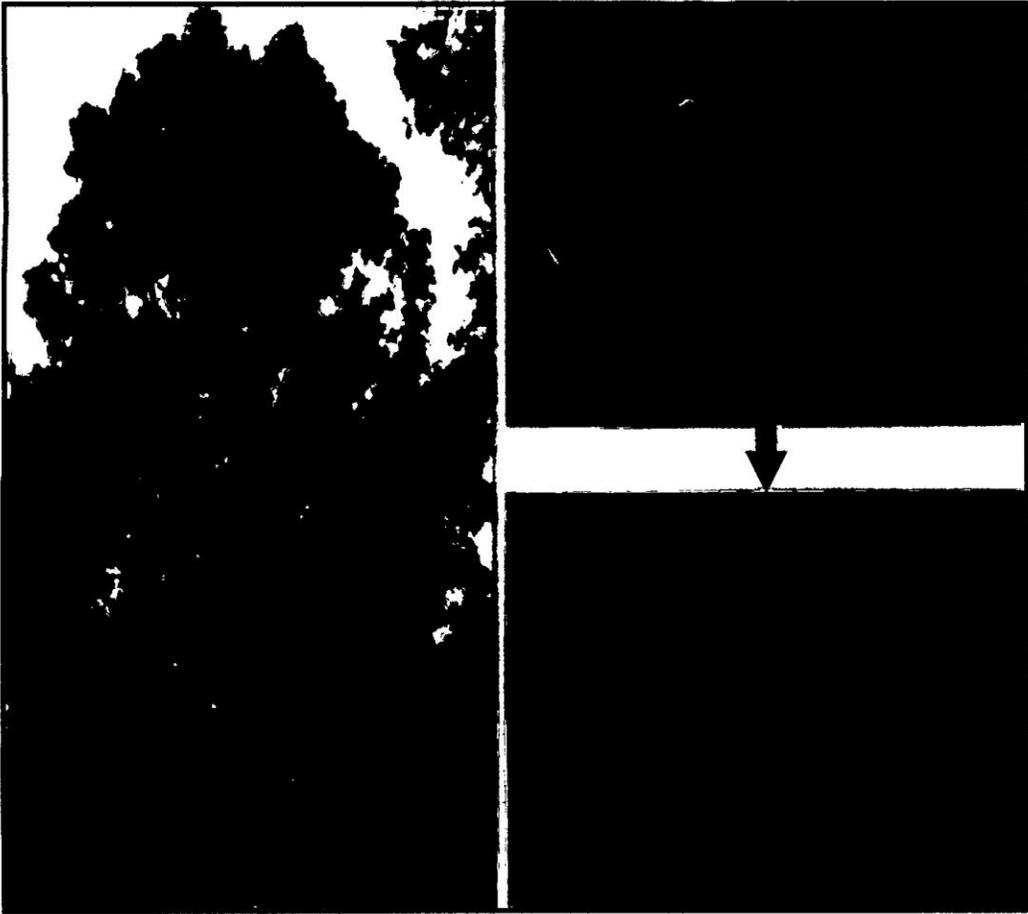
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada
para los fines que este le convenga.

Ayacucho 23 de Agosto del 2013



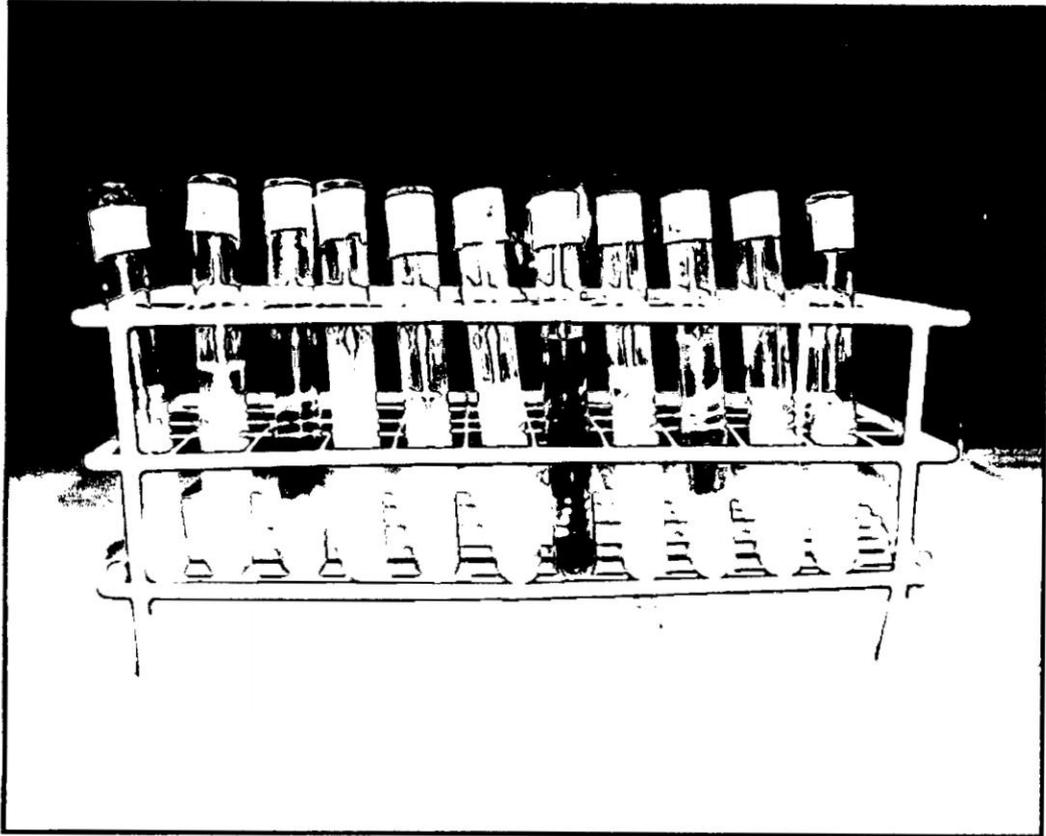
Anexo 2

Botones florales de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.



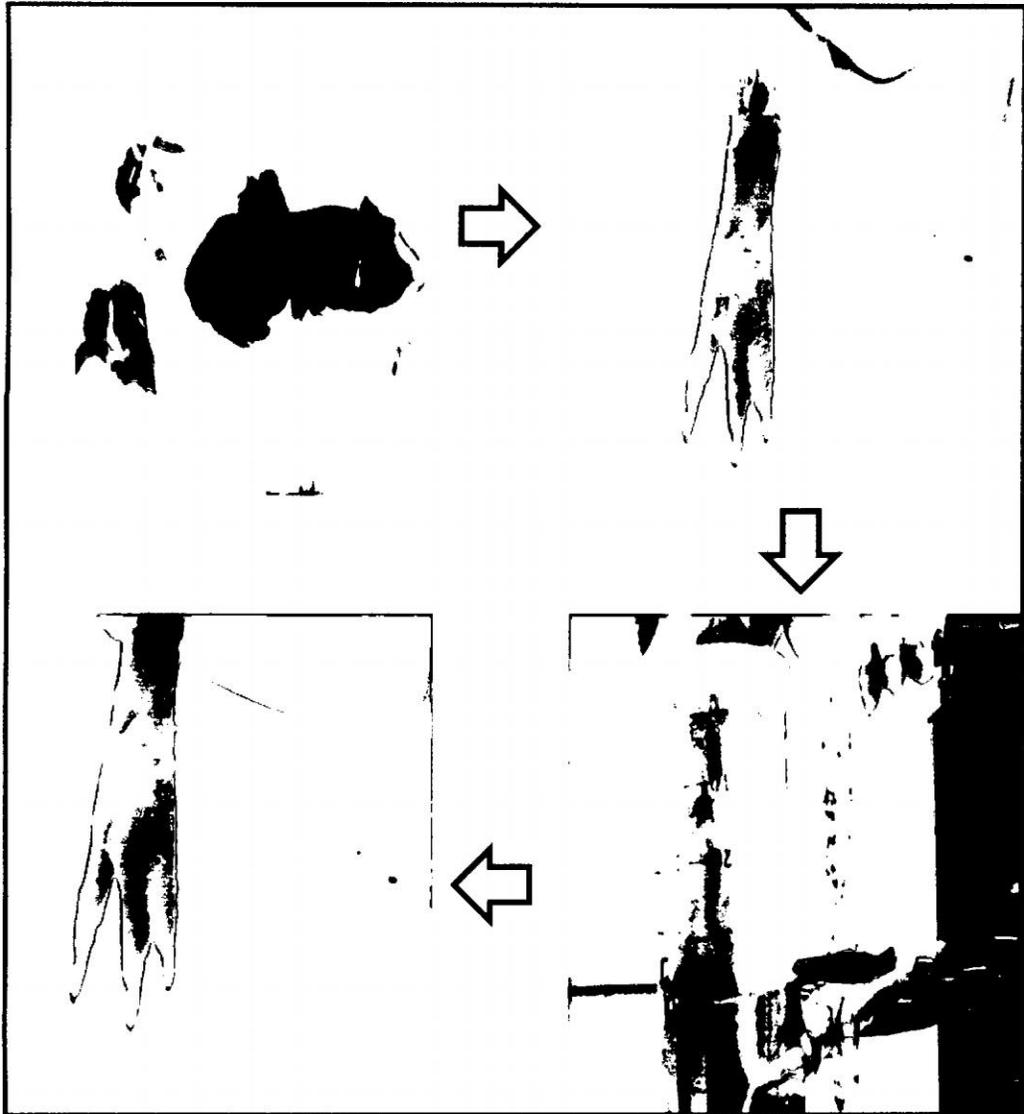
Anexo 3

Tubos con las reacciones de identificación de los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.



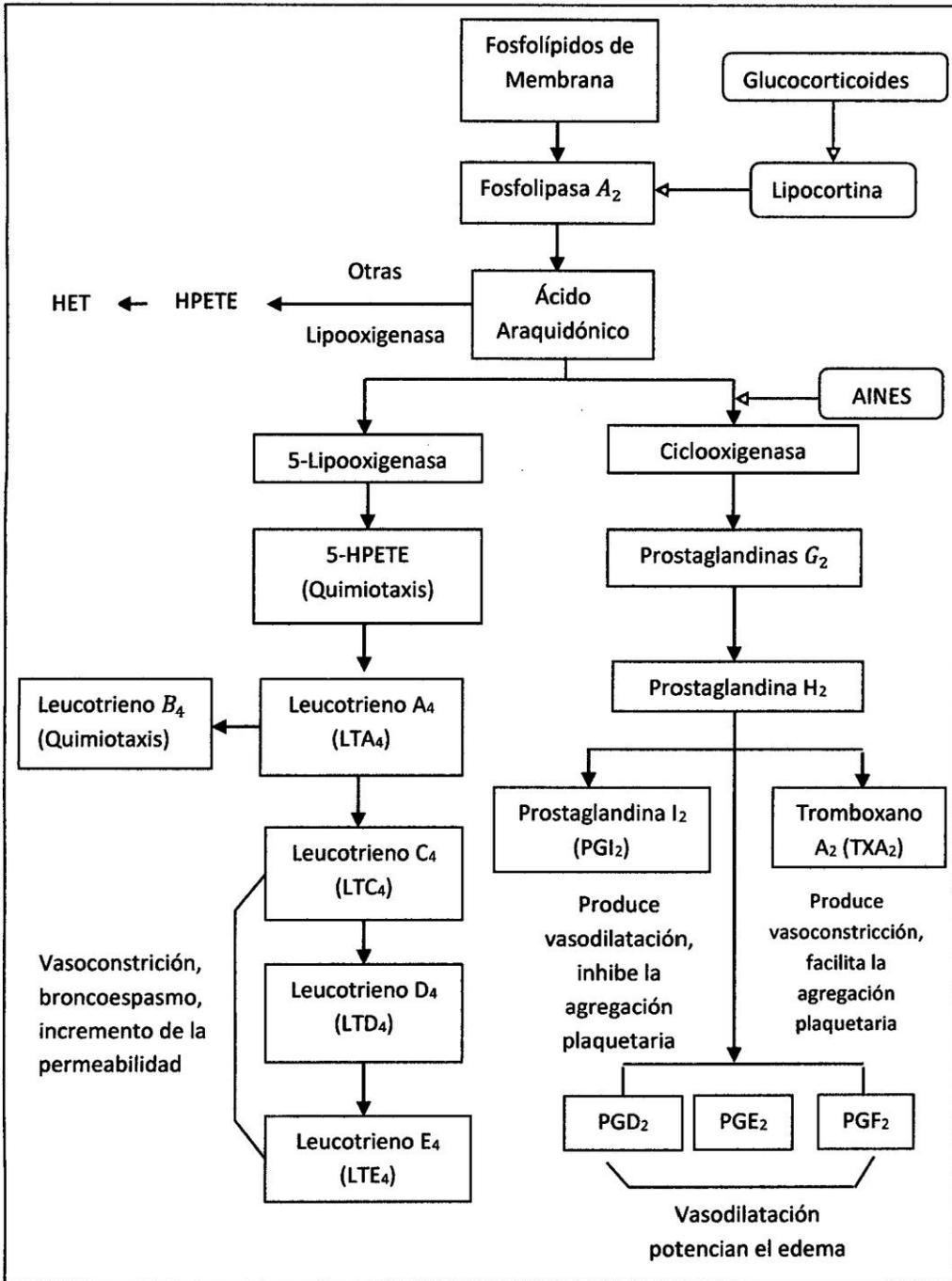
Anexo 4

Medición de los volúmenes de la pata inflamada con el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.



Anexo 5

Biosíntesis de los eicosanoides.



Leyenda:

HPETE = ácido hidroperoxieicosatetraenoico

HETE = ácido hidroxieicosatetraenoico

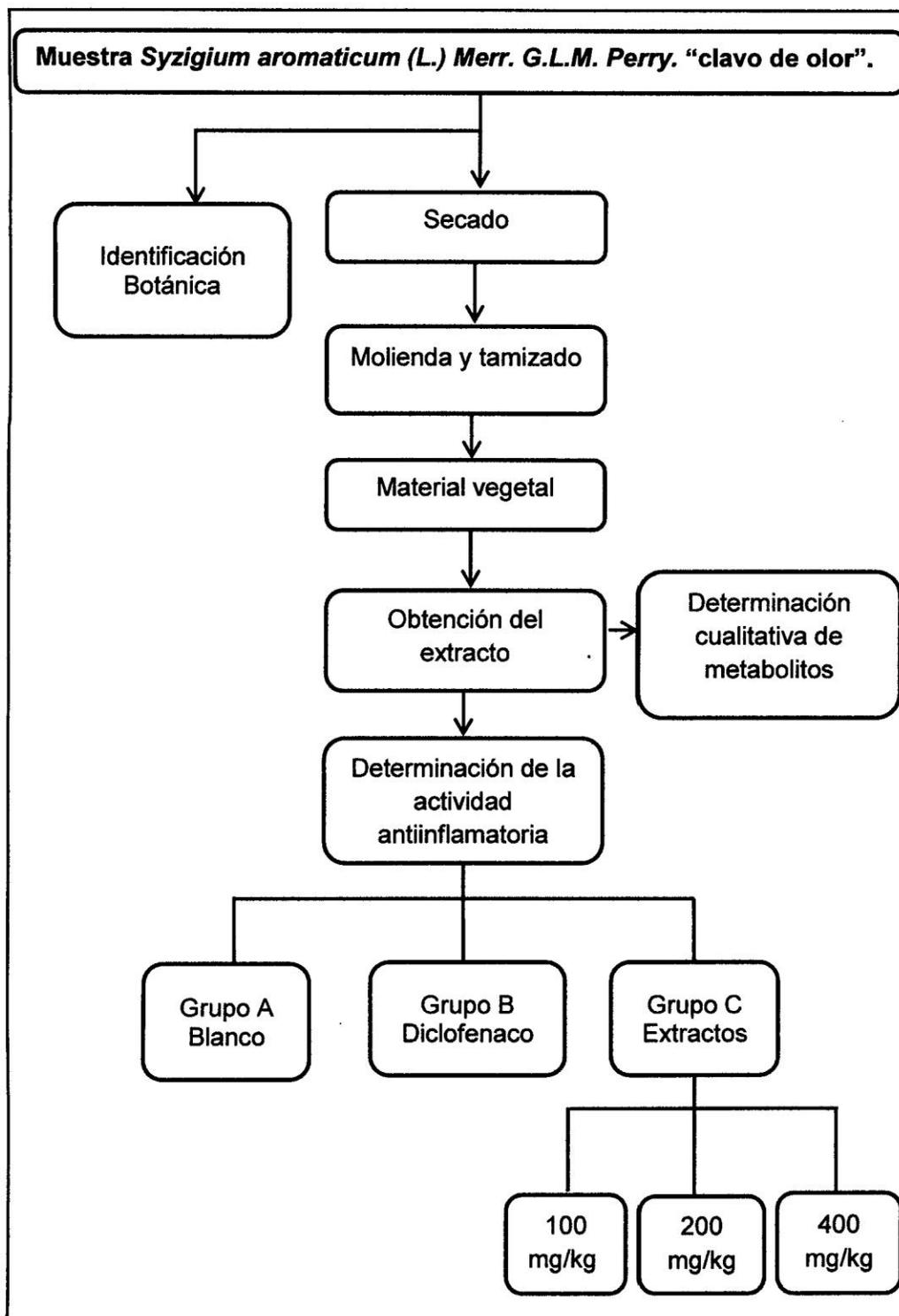
AINE = fármacos antiinflamatorios no esteroides

PG = prostaglandinas

LT = leucotrienos.

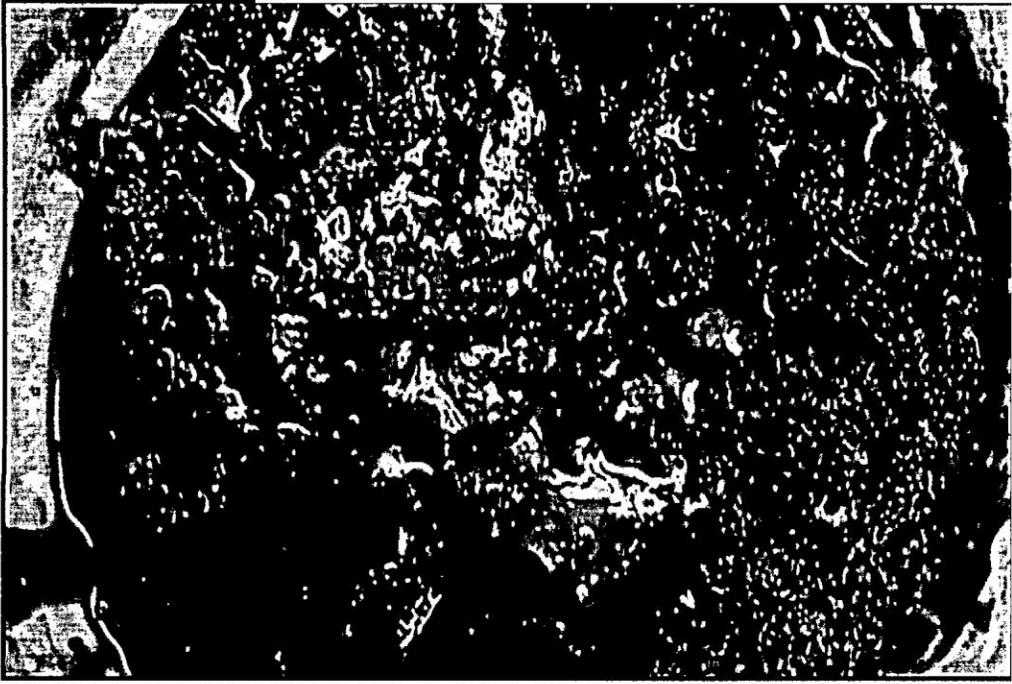
Anexo 6

Flujograma experimental para la evaluación antiinflamatoria.



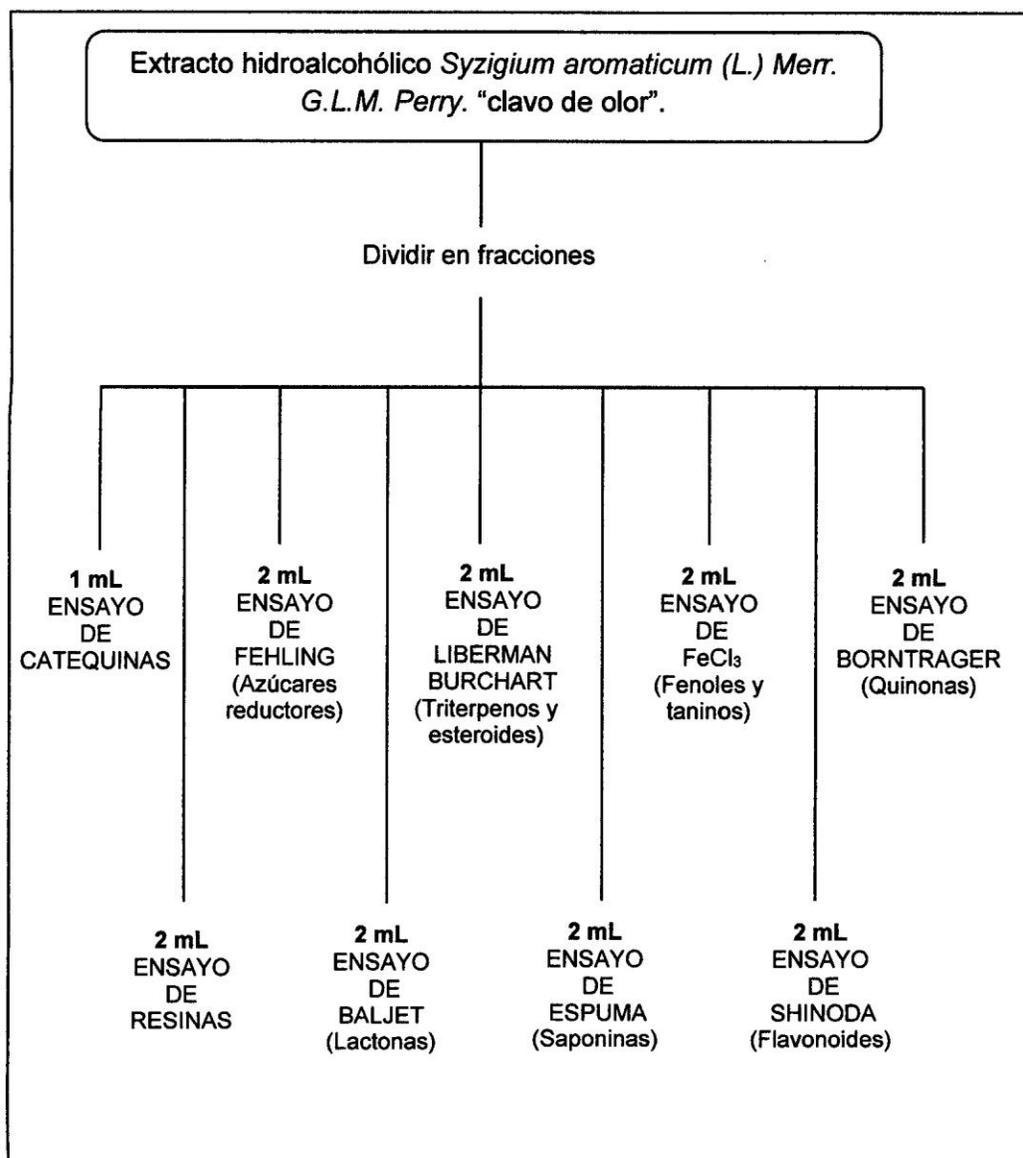
Anexo 7

Extracto hidroalcohólico concentrado



Anexo 8

Esquema de la identificación de metabolitos secundarios para el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".



Anexo 9

Análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" y el estándar diclofenaco frente a inflamación producida por carragenina al 1%. Ayacucho - 2013.

Inflamación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	15673,302	4	3918,325	2309425,591	,000
Intra-grupos	,042	25	,002		
Total	15673,344	29			

Anexo 10

Prueba de Tukey de los valores de inflamación del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho - 2013.

Variable dependiente: Inflamación

HSD de Tukey

* La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

(I) TTO	(J) TTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
EH 100 mg/kg	EH 200 mg/kg	6,79500(*)	,02378	,000	6,7252	6,8648
	EH 400 mg/kg	-52,20667(*)	,02378	,000	-52,2765	-52,1368
	Diclofenaco 20 mg/kg	7,62333(*)	,02378	,000	7,5535	7,6932
	Blanco	-22,64667(*)	,02378	,000	-22,7165	-22,5768
EH 200 mg/kg	EH 100 mg/kg	-6,79500(*)	,02378	,000	-6,8648	-6,7252
	EH 400 mg/kg	-59,00167(*)	,02378	,000	-59,0715	-58,9318
	Diclofenaco 20 mg/kg	,82833(*)	,02378	,000	,7585	,8982
	Blanco	-29,44167(*)	,02378	,000	-29,5115	-29,3718
EH 400 mg/kg	EH 100 mg/kg	52,20667(*)	,02378	,000	52,1368	52,2765
	EH 200 mg/kg	59,00167(*)	,02378	,000	58,9318	59,0715
	Diclofenaco 20 mg/kg	59,83000(*)	,02378	,000	59,7602	59,8998
	Blanco	29,56000(*)	,02378	,000	29,4902	29,6298
Diclofenaco 20 mg/kg	EH 100 mg/kg	-7,62333(*)	,02378	,000	-7,6932	-7,5535
	EH 200 mg/kg	-,82833(*)	,02378	,000	-,8982	-,7585
	EH 400 mg/kg	-59,83000(*)	,02378	,000	-59,8998	-59,7602
	Blanco	-30,27000(*)	,02378	,000	-30,3398	-30,2002
Blanco	EH 100 mg/kg	22,64667(*)	,02378	,000	22,5768	22,7165
	EH 200 mg/kg	29,44167(*)	,02378	,000	29,3718	29,5115
	EH 400 mg/kg	-29,56000(*)	,02378	,000	-29,6298	-29,4902
	Diclofenaco 20 mg/kg	30,27000(*)	,02378	,000	30,2002	30,3398

Anexo 11
Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> . "clavo de olor". Ayacucho-2013.	¿Tendrá actividad antiinflamatoria el extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> ?	<p>Objetivo general: Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i>.</p> <p>Objetivos específicos: - Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i>. - Evaluar la dosis óptima del extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i>. - Comparar la dosis con mayor actividad del extracto hidroalcohólico con el estándar diclofenaco.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Antecedentes • <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. G. L. M. Perry. "clavo de olor". • Flavonoides • Farmacología de la inflamación 	El extracto hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> tiene actividad antiinflamatoria.	<p>Variable dependiente.</p> <p>Actividad antiinflamatoria.</p> <p>Variable independiente.</p> <p>Extracto Hidroalcohólico del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i>.</p> <p>Variable control</p> <p>cobayos <i>Cavia porcellus</i> de 400 - 500 g de peso, de 2 meses de edad y en ayunas de 12 horas.</p>	<p>Tipo de Estudio Básico – experimental</p> <p>Muestreo Población.- Botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> "clavo de olor" procedente del mercado Nery García - Huamanga - Ayacucho.</p> <p>Muestra.- Un kilogramo (1 kg) del botón floral de <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. G. L. M. Perry. "clavo de olor".</p> <p>Unidad experimental.- Los veinticinco (25) cobayos <i>Cavia porcellus</i> – INIA.</p> <p>Metodología.- Medir los volúmenes normales de la pata posterior derecha de los cobayos de los 5 lotes de animales de experimentación con un pletisnómetro manual.</p> <p>Realizar la curva de edema pedal producido por la sustancia de carragenina al 1% en solución salina fisiológica, la cual causa el edema pedal; y realizar las mediciones cada hora por un intervalo de 7 horas.</p> <p>Administrar por vía oral los volúmenes de la muestra problema a una concentración determinada. Media hora después inyectar 0,2 mL de una suspensión de carragenina al 1% en solución salina fisiológica en la aponeurosis plantar derecha de los cobayos.</p> <p>Realizar mediciones cada media hora hasta las 7 horas del inicio del experimento.</p>

Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor”. Ayacucho - 2013.

María Angélica Palomino Ayme¹ y Johnny Aldo Tinco Jayo¹

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como punto de partida a la inflamación que viene a ser la expresión de las alteraciones que se producen en respuesta a una lesión o agresión de un tejido. Con palabras latinas originales se describe como dolor, rubor, calor y tumor. Fisiológicamente, estos signos aparecen como consecuencia de las alteraciones locales de los vasos sanguíneos que conducen a una vasodilatación, al aumento de la permeabilidad vascular y a un aumento de la receptividad hística por los leucocitos.

Esta investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor”, en los laboratorios del área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

La muestra fue adquirida en el Mercado Nery García Zárate de la provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho. Esta muestra fue macerada con alcohol etílico de 80°, obteniéndose un extracto hidroalcohólico que fue concentrado a sequedad en una estufa.

La determinación cualitativa de metabolitos secundarios se realizó utilizando pruebas de precipitación y coloración.

La actividad antiinflamatoria, se determinó mediante el ensayo de edema subplantar inducido por carragenina en 25 cobayos machos (*Cavia porcellus*), divididos en 5 grupos. El primer grupo recibió suero fisiológico, el segundo, diclofenaco de 20 mg/kg y los tres últimos recibieron 100, 200 y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico, respectivamente. Reportándose los resultados como volumen de inflamación y el porcentaje de inflamación.

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto fueron fenoles y/o taninos triterpenos, esteroides, flavonoides, lactonas y/o cumarinas.

Al analizar el volumen de inflamación y porcentaje de inflamación, se encontraron valores semejantes en el porcentaje de inhibición de la inflamación entre el extracto hidroalcohólico de 200 mg/kg (87,1%) y el diclofenaco de 20 mg/kg (87,9%). Entonces, se concluye que el extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” tiene actividad antiinflamatoria.

Palabras clave: *Syzygium aromaticum*, extracto hidroalcohólico, antiinflamatorio.

SUMMARY

The present research had as a starting point to inflammation which becomes the expression of the alterations that occur in response to injury or assault of a tissue. With original Latin words described as pain, redness, heat and tumor. Physiologically, these signs appear as a consequence of local changes in blood vessels leading to vasodilation, increased vascular permeability and increased receptivity of tissue by leukocytes.

This research was conducted in order to determine the anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of the flower buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "Clove" in the laboratories of the area of Pharmacy, Faculty of Biological Sciences of the National University of San Cristobal de Huamanga.

The sample was purchased in the market Nery García Zárate Huamanga province of Ayacucho.

This sample was macerated with ethanol from 80 ° to give a hydro - alcoholic extract was concentrated to dryness in an oven.

Qualitative determination of secondary metabolites was performed using precipitation and coloration tests.

The antiinflammatory activity was determined by testing subplantar carrageenin-induced edema in 25 male guinea pigs (*Cavia porcellus*), divided into 5 groups. The first group received saline, the second, diclofenac 20 mg / kg, and the last three received 100, 200 and 400 mg / kg of the hydroalcoholic, extract respectively. The results being reported as a volume percentage of inflammation and inflammation.

Secondary metabolites present in the extract were phenols and / or triterpenes tannins, steroids, flavonoids, lactones and / or coumarins.

By analyzing the amount of inflammation and swelling rate, similar values were found in the percentage of inhibition of inflammation between the hydroalcoholic extract of 200 mg / kg (87.1%) and diclofenac 20 mg / kg (87.9 %). So we conclude that the hydroalcoholic extract of *Syzygium aromaticum* flower bud (L.) Merr. G.L.M. Perry. "Clove" has anti-inflammatory activity.

Key words: *Syzygium aromaticum*, hydroalcoholic extract, anti-inflammatory.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad en el Perú nos ofrece grandes oportunidades para realizar trabajos de investigación referentes, principalmente, a las plantas que tienen propiedades curativas.

Nuestra región posee una amplia y rica diversidad en flora. Es por ello que, como profesionales de la salud, estamos en la obligación de incrementar el estudio de las especies vegetales para contribuir a su mejor aprovechamiento y beneficio para la población. Por tanto, se considera este estudio como un aporte a la medicina tradicional.¹

Los botones florales de *Syzygium aromaticum*, "clavo de olor", machacados se usan como enjuagues bucales y masticados para el dolor de muela. Se le atribuye la propiedad analgésica, anestésica, antiinflamatoria, antiemética, antioxidante, antiséptica, digestiva, etc.

En los extractos de las plantas, se encuentran sustancias como flavonoides, polifenoles que tienen capacidad antioxidante y presentan actividad antiinflamatoria.²

Los AINEs son fármacos más vendidos a nivel mundial, se estima que más de 30 millones de personas en el mundo reciben algún AINE diariamente. Los fármacos son recomendados en el primer peldaño de la escalera analgésica de la OMS.³

El presente trabajo sirve para disminuir el uso de los AINEs, puesto que los botones florales de *Syzygium aromaticum* "clavo de olor" tiene un uso ampliamente difundido en

el mundo y en el Perú. Estos botones florales se emplean para el tratamiento de inflamaciones y como aséptico. También, han sido investigados anteriormente de manera científica identificando los metabolitos secundarios como flavonoides y fenoles en gran cantidad y propiedades antiinflamatorias y gastroprotectoras. Es conocido por la relación existente entre las especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno que provocan estrés oxidativo con las enfermedades inflamatorias; por lo que los extractos de plantas que presentan sustancias como flavonoides, polifenoles y con capacidad antioxidante, que muchas veces presentan actividad antiinflamatoria.⁴ De acuerdo a ello se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".
- Evaluar la dosis óptima de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor".
- Comparar la dosis con mayor actividad antiinflamatoria del extracto

hidroalcohólico del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” con el estándar diclofenaco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Farmacología y Farmacognosia del área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses mayo a octubre del 2013.

Materiales

Población

Syzygium aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” que es procedente del mercado Nery García Zárate de la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

Muestra vegetal

Un kilogramo (1 kg) de botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” tomados al azar (Anexo 2). La identificación botánica fue realizada por la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

Animales de experimentación

Los 25 cobayos, *Cavia porcellus*, de 350 a 450 g de peso, con 3 a 4 meses de edad, aproximadamente, adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) de la ciudad de Ayacucho, con un mes de anticipación para su acondicionamiento respectivo.

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección, identificación y selección de la muestra

Syzygium aromaticum (L.) Merr. G.L.M. Perry. “clavo de olor” fue adquirido del mercado Nery García Zárate, luego la muestra fue triturada con ayuda de un mortero.

Preparación del extracto hidroalcohólico

Se tomó 1000 g de la muestra seca y triturada (molida) y se maceró en un frasco de color ámbar con alcohol de 80° (se agregó alcohol hasta cubrir la muestra) por un lapso de 2 semanas, aproximadamente. Durante el proceso el frasco fue agitado diariamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente con la muestra.

Se separó el solvente de la muestra por medio de filtración. A continuación se colocó la solución en platos de cerámica y

se llevó a estufa por un lapso de 5 días controlando la temperatura a 32 °C, hasta obtener el extracto seco, según los pasos propuestos por Miranda en el año 2000 (Anexo 7).

Identificación de los metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación se realizaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda (Anexo 8).

Preparación de la concentración de la solución del extracto hidroalcohólico

Se preparó la solución del extracto hidroalcohólico al 80%. El extracto seco fue disuelto en agua destilada al 4% del cual se preparó las concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg. Luego se prosigue a dosificar a los cobayos según su peso.

Determinación de actividad antiinflamatoria

El método usado fue el edema plantar inducido en cobayos por inyección de carragenina en la pata posterior. Entre los agentes inflamatorios que se usan en la evaluación de la actividad antiinflamatoria con mayor frecuencia es la carragenina, por producir un edema que es menos modificada por factores ajenos propiamente característicos de la inflamación y guarda buena relación con la actividad antiinflamatoria en clínica.²⁸

Procedimiento experimental

- Se pesó a los cobayos y se colocaron en jaulas individuales.
- Se depiló la pata posterior derecha y luego se marcó con plumón indeleble para facilitar la medición del volumen de la pata.
- Se midió el volumen inicial de la pata posterior derecha con el pletisnómetro manual.
- Se aplicó vía oral, con ayuda de una sonda adaptada a un medidor de volumen, las concentraciones de los extractos hidroalcohólico (dosificadas según el peso de cada cobayo), así como se aplicó vía oral el control y estándar.
- Después de media hora se aplicó 0.05 mL de la solución de carragenina al 1% en la zona subplantar de la pata derecha rasurada previamente.
- Se realizan mediciones sucesivas del volumen de inflamación de la pata durante 7 horas continuas con ayuda del pletisnómetro (Anexo 4).

$$\% \text{ inflamación} = \frac{V_i - V_0}{V_0} \times 100$$

V_i = Volumen de inflamación de la pata.

V_0 = Volumen normal (antes de aplicar la carragenina).

Diseño experimental

La determinación de la actividad antiinflamatoria se realizó utilizando un diseño completamente randomizado con estímulo creciente. Los ensayos se realizaron comparando 5 tratamientos (Dosis: 100, 200 y 400 mg/kg, control y estándar). Cada tratamiento estuvo constituido por 5 repeticiones a las que se administraron las dosis respectivas, el diclofenaco 20 mg/kg y suero fisiológico.

Tabla 1: Diseño experimental de los tratamientos.

Grupos	Tratamiento extracto hidroalcohólico				
	Suero fisiológico	Diclofenaco 20 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
grupo 1	x				
grupo 2		x			
grupo 3			x		
grupo 4				x	
grupo 5					x

Análisis de datos

Se calculó el promedio del porcentaje de inflamación, luego la desviación estándar y el coeficiente de variación. Luego se determinó la diferencia significativa entre los tratamientos empleados, y se evaluó a través del análisis de Varianza (ANOVA) con el nivel de significación de 0,05.²⁹

RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el Extracto Hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
Catequinas	Catequinas	++	Verde carmelita
Resinas	Resinas	++	Precipitado
Azúcares reductores	Ensayo de Fehling	++	Coloración roja
Lactonas y/o cumarinas	Reactivo de Baljet	++	Coloración roja
Triterpenos y/o esteroides	Reactivo de Lieberman Burchard	++	Verde intenso
Saponinas	Prueba de espuma	++	Espuma 2mm
Taninos y/o fenoles	Reactivo de cloruro férrico	++ +	Rojo vino
Quinonas	Reactivo de Borntrager	++	Coloración roja
Flavonoides	Prueba de Shinoda	++ +	Coloración Roja

Legenda :
 (+++) : Abundante
 (++) : Moderado
 (+) : Leve

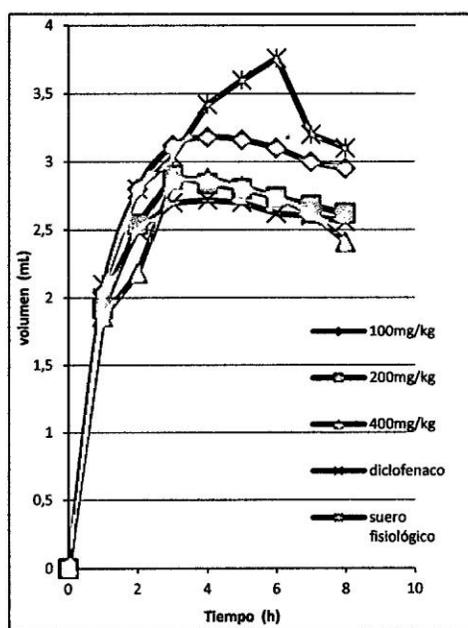


Figura 2. Volumen de inflamación en función del tiempo por la actividad de los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico del botón floral *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

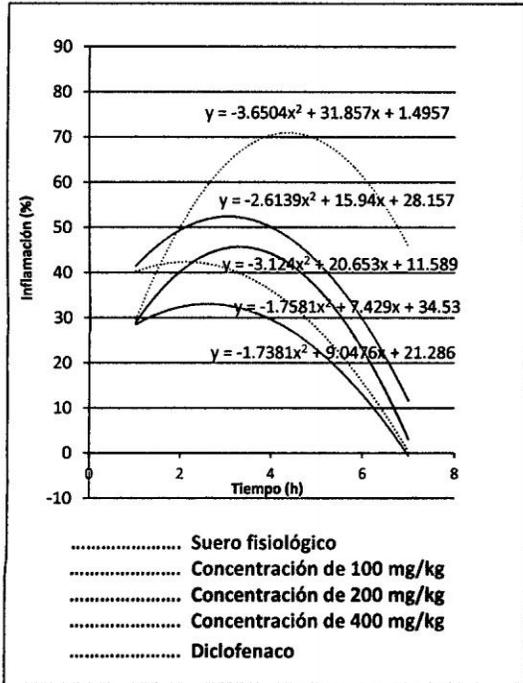


Figura 3. Variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

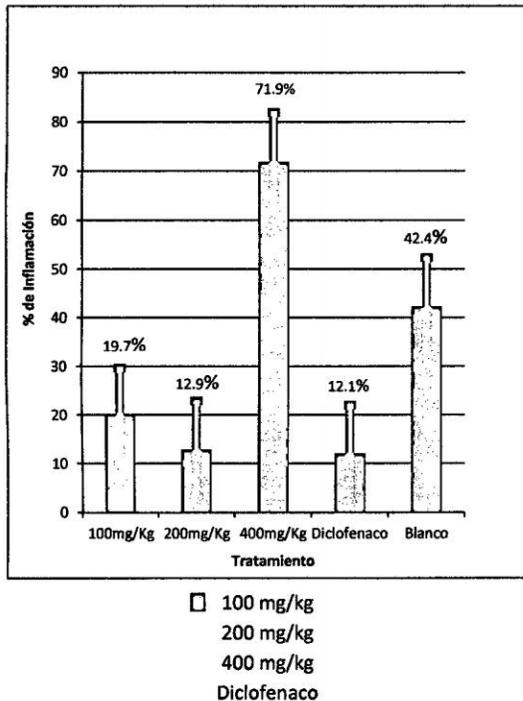


Figura 4. Porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

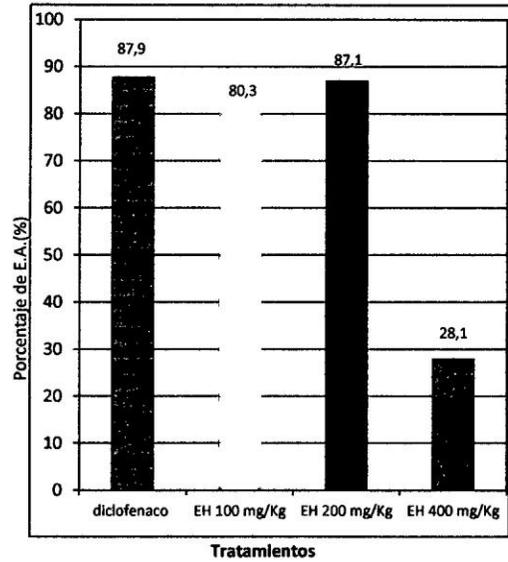


Figura 5. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos del extracto hidroalcohólico (E.H.) del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Ayacucho – 2013.

DISCUSIÓN

En la extracción de los metabolitos secundarios se emplea extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", porque son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga, usando el método Miranda. Como resultado se encontraron catequinas, resinas, azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, quinonas y flavonoides.³⁰

Los flavonoides se dividen en aglicones y heterósidos. Los aglicones son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas, y los heterósidos son solubles en agua y mezclas hidrosoluble.³¹ La esencia de clavo produce una excitación fugaz seguida de cierta embriaguez con disminución de la sensibilidad; débiles dosis como analgésicas, y fuertes, anestésica.

La extracción del principio activo del botón floral del *Syzygium aromaticum* se realizó con alcohol de 96° diluido al 80% por maceración para garantizar la mayor extracción de metabolitos posibles y luego se eliminó el solvente llevando el extracto a sequedad por un lapso de 7 días a 32 °C para dar mayor estabilidad al extracto seco (Anexo 7).

El Anexo 3 responde a los resultados de la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor". Se realizó mediante una marcha fitoquímica según el método de Miranda. Los resultados del ensayo demuestran la presencia de compuestos.

Muchos flavonoides y fenoles acaban con la inflamación. La explicación posible es la actividad inhibitoria de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandina componente responsable de la actividad antiinflamatoria³². Numerosas propiedades, comprobadas in vitro, pueden explicar la actividad de los flavonoides inicialmente se ha postulado que actúan sobre la reducción del ácido dehidroascórbico vía glutatión sobre el cual se comportan como donantes de hidrógeno. En la actualidad se opina más globalmente que estos fenoles captan los radicales formados en diversas circunstancias: anoxia (ausencia de oxígeno), inflamación y autooxidación lipídica.³³

La Figura 2 es la representación del comportamiento de la diferencia de volúmenes de inflamación para los distintos tratamientos. La medición se realizó por un lapso de 7 horas. La misma figura indica que el grupo control llega a tener mayor inflamación en la tercera hora, para los distintos tratamientos, subiendo hasta la sexta hora, luego en el tiempo restante, el volumen inflamado baja de manera constante. Para la dosis de 400 mg/kg el nivel de inflamación llega a su nivel máximo en la tercera hora y en lo sucesivo de las horas el volumen inflamado baja de manera constante. Para la dosis de 200 mg/kg, se observa que el nivel de inflamación es casi paralelo con lo del estándar (diclofenaco); por ello, esta dosis de 200 mg/kg, probablemente, es la dosis con mayor eficacia.

La Figura 3 representa la variación del porcentaje de inflamación en función del tiempo para los diferentes tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", cuya interpretación es la siguiente: La curva que tiene mayor acercamiento a la curva estándar correspondiente al diclofenaco es la que pertenece a la dosis de 200 mg/kg, estableciéndose de esta manera la variación con mayor efectividad antiinflamatoria.

Para el estudio farmacológico se empleó el extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor" y el método utilizado fue descrito por Winter y Cols, posteriormente modificado por Sughisita y Cols. Para la determinación fue el de edema subplantar inducido por carragenina. Se utilizaron cobayos, *Cavia porcellus*, a los cuales se les indujo la inflamación por inyección de carragenina en la zona subplantar de la pata posterior.³⁴ Los extractos alcohólicos de los botones florales, administrados por vía oral, fueron evaluados utilizando el test del edema de la pata subplantar inducida por carragenina y se comprobó la actividad antiinflamatoria que ha sido reportado por la población. La explicación científica de porqué es, efectivamente, útil, es que el clavo de olor posee una proporción alta de una sustancia llamada eugenol.

Este es un modelo sensible de antiinflamatorios no esteroideos y es, por esto, ampliamente utilizado en la investigación de nuevos agentes. El modelo de la carragenina se presta bien al estudio de la acción de antiinflamatorios esferoidales e inhibidores de la ciclooxigenasa, como la aspirina, que bloquean la síntesis de prostaglandinas.³⁵

En Japón se realizó estudios en los extractos de especias, verduras y frutas que inhiben 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) inducida por edema de la oreja en ratones. Cerca de 100 extractos de metanol obtenidos de las especias, verduras y frutas se analizaron y sus ratios de inhibición calculados. En general, los extractos de especias eran inhibidores más eficaces que los extractos vegetales y de frutas. Los extractos de metanol de salvia, stevia, canela, cúrcuma, menta, espinacas, berros, tomate y plántulas de rábano marcadamente inhibida la actividad inflamatoria inducida por TPA en ratones. Dos compuestos activos, humulona y lupeol 3-palmitato fueron separados de salvia y stevia, Se concluye que *Syzygium aromaticum* presenta la actividad antiinflamatoria respectivamente.³⁶

Estudios realizados en Cuba de la especie "*capraria biflora*" la fracción de acetato de etilo fue evaluada por cromatografía de capa delgada, permitiendo comprobar la presencia de al menos dos flavonoides tipo flavonas. Estos resultados comprueban el efecto antiinflamatorio de la planta, lo cual corrobora su uso popular en enfermedades

asociadas a procesos inflamatorios, además permiten atribuir dicho efecto a los flavonoides presentes en la planta aunque no descarta la implicación de otros metabolitos.³⁷

El estudio realizado sobre "Actividad antiinflamatoria y antioxidante de la *Jungia paniculata*", demuestra que los extractos tienen una alta actividad y que contiene altos niveles de polifenoles totales y flavonoides y la prueba de actividad antiinflamatoria demuestra que en la tercera hora después de administrar el extracto de metanol al 50% de *jungia paniculata*, en una dosis oral de 500 mg/kg, se observa la supresión significativa de edema de planta de rata inducido por carragenina. Por lo que se presume que los botones florales poseen propiedades antiinflamatorias que confirman el uso de estos botones en la medicina tradicional como antiinflamatoria.³⁸

Al realizar este trabajo se observa que el comportamiento de las dosis 200 y 100 mg/kg produce inhibición de la inflamación desde la tercera hora, bajando progresivamente a lo largo de las horas restantes.

Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser los causantes de la antiinflamación porque son absorbidos por las membranas celulares y las protegen de la acción de los radicales libres. Estos son liposoluble e hidrosolubles, es decir, se disuelven en lípidos o en agua; además acaban con la inflamación, las alergias y aumentan la efectividad de las células "natural killer" del sistema inmunológico. También, ejercerían su acción antiinflamatoria al inhibir las actividades enzimáticas del metabolismo del ácido araquidónico por la vías de la 5-lípooxigenasa, así como por su actividad antiproteolítica al inhibir algunas proteasas de la matriz.³⁹

La Figura 4 muestra el porcentaje de inflamación en función de los tratamientos donde observamos que posee menor inflamación para el diclofenaco (12,1%), seguido del tratamiento de los extractos de *Syzygium aromaticum* de 200 mg/kg (12,9%) y 100 mg/kg (19,7%) y muy elevada para el de 400 mg/kg (71,9%).

La Figura 5 presenta el porcentaje de eficacia antiinflamatoria (E.A.) de los tratamientos del extracto hidroalcohólico (E.H.) del botón floral de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. G.L.M. Perry. "clavo de olor", mostrando, claramente, la acción antiinflamatoria eficaz de la dosis E.H. 200

mg/kg (87,1%) que tiene bastante proximidad a la eficacia del diclofenaco (87,9%).

El análisis de varianza (ANOVA) supone que la hipótesis nula de la igualdad de medias en los diferentes grupos es cierta, podríamos decir que todas las observaciones pueden considerarse que provienen de un único grupo cuya media y variabilidad es la misma que la de cualquiera de los grupos separados.

Realizando la prueba de ANOVA se obtiene una significación baja (menor a 0,05) rechazaremos la hipótesis nula y se identifica en que grupos se producen diferencias.

Se realizó el análisis de varianza de los valores del porcentaje de inflamación donde se presenta un valor de significancia igual a cero (0,000) anexo 9 por lo tanto se concluye que existen diferencias significativas entre los tratamientos de anti inflamación en un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

Se realizó la prueba de Tukey (Anexo 10), donde se realiza las combinaciones de los tratamientos y comprobamos que los tratamientos de 100 y 200 mg/kg no difiere significativamente de la media estándar (diclofenaco) con un nivel de confianza de 95 % ($p < 0,05$). Representa la prueba de las mínimas diferencias significativas para las medias del porcentaje de inflamación de los tratamientos donde ofrece una clasificación en subgrupos basados en el grado parecido existente entre las medidas de 100 y 200 mg/kg no difieren significativamente de la medida del estándar (diclofenaco).

En la investigación se evaluó la actividad de extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum*, demostrándose que los resultados del porcentaje de inflamación de estándar diclofenaco son estadísticamente similares a los resultados obtenidos con los tratamientos de 100 y 200 mg/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villavicencio O. La fitoterapia a través del tiempo [Artículo en línea]. Programa Nacional de Medicina Complementaria PRONAMEC, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 2009. [acceso 15 de octubre de 2010]. Disponible en: <http://www.maca-peruana.com/análisis.HTML>.

2. Duke J.A. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Panamá: Boca Ratón, CRC Press; 1995.
3. Alvarado J. Apuntes de Farmacología 4. Perú: Apuntes Médicos del Perú; 2009.
4. García H. Plantas curativas mexicanas. México: Panorama; 1991.
5. Lock de Ugaz O. Análisis Fitoquímico y Metabolitos Secundarios. [Monografías en línea]. Programa Nacional de Medicina Complementaria - PRONAMEC, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 2009. [acceso 13 de octubre de 2013]. Disponible en <http://maca-peruana.com/análisis.htm>.
6. Planas S. Caracterización antitumoral de plantas medicinales peruanas. Actas de sesión de investigación de avance CONCYTEC Y ACNCYT. Vol. 1. Lima, Perú; 1993.
7. Nigenda G, Flores G, López S, Nuñez E. La Práctica de la Medicina Tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. México; 2001.
8. Ramírez J. Estudio Fitoquímico de *Gnaphalium viravira* "wira wira" y la determinación de su actividad antiinflamatoria. [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 1997.
9. Tinco J. Estudio Fitoquímico de *Oenothera rosea* "yawar suqu" y la determinación de su actividad antiinflamatoria. [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 1998.
10. Flores L. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de *Verbena officinalis* "verbena". [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
11. Solano N. Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junjia paniculata* (DC) A. Gray. "matico de puna". [Tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2010.
12. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universitaria; 1995.
13. Thomson W. Las plantas medicinales. Barcelona, España: Blume; 1990.
14. Robineau L. Hacia una Farmacopea Caribeña. Honduras, Santo Domingo: ENDA – Caribe; UNAH; 1991.
15. Huang KC. The Pharmacology of Chinese Herbs. China: Boca Ratón, CRC Press; 1993.
16. Zheng GQ, Kenney PM. Lam. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticancerigenic agents. London: J. Edit Nat Prod; 1992.
17. Hussain HSN, Deeni II. Plants in Kano ethnomedicine: Screening for antimicrobial activity and alkaloids Int Pharmacog. India; 1998.
18. Kawasaki L, Bruce K, Holst. Revista peruana. Vol. 3. Lima, Perú; 2006.
19. Jackson BP, Snowdon DW. Atlas of Microscopy of medicinal Plantd, Culinary Herbs and Spic. London: Boca Ratón, CRC Press; 1990.
20. Kuklinski C. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Omega S.A; 2003.
21. Fuente G. Fisiopatología de la inflamación. [Artículo en línea]. [acceso 02 de febrero de 2010]. Disponible en <http://www2.udec.cl/~gdela fue/web/Inflama.pdf>.
22. Taylor M, Dawson J. Lo esencial en Farmacología. 2ª ed. España: Dan horton – szar; 2001.
23. Flores J. Farmacología de la inflamación. 2ª ed. Barcelona, España: Ediciones científicas y técnicas S.A; 1992.
24. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Patología Estructural y Funcional. Sexta edición en español. Madrid, España: Elsevier; 2000.
25. Litter M. Compendio de Farmacología. 4ª ed. Buenos Aires, Argentina: El Ateneo; 1992.
26. Ludeña M. Analgésico, antipirético y antiinflamatorios no esteroideos AINES. Universidad Cayetano Heredia. Facultad Estomatología. Lima, Perú; 2003.
27. Palomino E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Acalium alva engleriana* "raíz althea" en cobayos. [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
28. CYTED, Métodos farmacológicos para validación de plantas medicinales. Proyecto X-4. Perú; 2001.
29. Paniagua J. Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema y gel elaborados a base del extracto atomizado de la corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. "uña de gato". [tesis pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2008.
30. Bézanger – Beauquesne L, Pinkas K, Torck M. Les plantes dans la Therapeutique Moderne. Paris,

- Francia: Maloine; 1991.
31. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. La Habana, Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana; 1996.
 32. Bisset NG. Herbal Drug and phytopharmaceutical. London: Boca Ratón; 1994.
 33. Artech A. Fitoterapia. Vademecum de prescripción Bilbao. India: CITA; 1992.
 34. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Antiinflamatorio testing methods: Comparative evaluation of mice and rats J. Pharm Dyn. Colombia, Cartagena; 1991.
 35. Mahmoud I, Alkofahi A, Abdelaziz A. Mutagenic and toxic activities of several spices and some Jordanian medicinal plants. Jordania: J. Pharmacog; 1992.
 36. Yasukawa K, Yamaguchi A, Arita J, Sakurai S, Ikeda and Takido M. Inhibitory effect of edible plant extracts on 12-O-tetradecanoylphorbol-13 - acetate-induced ear oedema in mice. Japón; 1993. [Acceso 01 de febrero de 2006]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.2650070218/abstract>.
 37. Vicet L, Acosta S, López A, García D. Actividad antiinflamatoria de flavonoides presentes en la *capraria biflora*. Cuba; 1995. [Acceso 03 marzo de 2009]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol36_s_02/F%20Produccionesvol36_s_02/F%20Producciones%20Plantas%20y%20Prod.%20Natya.pdf.
 38. Casado R, Lanada A, Calvo J. Anti inflammatory and antioxidant activities of *jungia paniculata*. [Tesis de doctorado]. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. España: Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra; 2010. [acceso 18 de octubre del 2011]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20673177>.
 39. Martínez S. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes- Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León. España; 2002. [acceso 20 de marzo del 2011]. Disponible en: <http://www.recursosdeenología.com/docs/2002/2002>.