

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA.

(UNAN – LEÓN).

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS.

CARRERA DE FARMACIA.



TEMA: Determinación de la inhibición de la Xantina Oxidasa en cinco especies vegetales de la región de Ometepe de Nicaragua, mediante espectrofotometría UV-vis.

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO QUÍMICO
FARMACEUTICO.**

ELABORADO:

- **BR. Marbell Yesenia Reyes Estrada.**
- **BR. Heissell Eliette Reyes Manzanares.**
- **BR. Aura Stella Rodríguez. Espinoza.**

TUTOR:

Msc. Fernando Baca.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



INDICE.

AGRADECIMIENTO.	3.
DEDICATORIA.	4.
TEMA.	7.
OBJETIVOS.	8.
INTRODUCCIÓN.	9.
MARCO TEORICO.	11.
MATERIAL Y METODO.	21.
RESULTADO.	27.
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.	30.
CONCLUSIÓN.	31.
RECOMENDACIONES.	32.
BIBLIOGRAFIA	33.
ANEXOS.	36.



AGRADECIMIENTO.

A Dios: nuestro Padre, por darnos, amor, sabiduría y fortaleza para poder culminar este Trabajo.

A nuestros Padres: por su apoyo, dedicación y ayuda económica brindada a lo largo de estos años de estudios.

A nuestro Tutor: Msc Fernando Baca, por guiarnos y tener la confianza de que podríamos concluir nuestra investigación.

AI PERSONAL DE ANÁLISIS FARMACÉUTICO DEL LABORATORIO (UNAN - LEÓN) LIC. YADER SALGADO por habernos apoyado durante la realización del presente trabajo.



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



DEDICATORIA:

A DIOS: por darme la vida, sabiduría y poder lograr esta meta soñada.

A MIS PADRES: por su amor, apoyo y dedicación que a lo largo de mis estudios han tenido para que hoy yo pueda cumplir esta meta.

A NUESTRO TUTOR: por su dedicación y acompañamiento en la realización de este trabajo.

MARBELL YESSENIA REYES ESTRADA.



DEDICATORIA

A DIOS: por darme la fortaleza de luchar contra mi mismo ego, por darme la sabiduría y por no abandonarme en mis momentos de tribulaciones por ser luz en mi camino

A MI FAMILIA: porque gracias a su apoyo y motivación me pude mantener firme y no abandonar mi meta ni el esfuerzo que quería obtener.

A MI MADRE: por brindarme su apoyo y comprensión en los momentos difíciles por los que pase por darme siempre sus consejos de ánimo porque gracias a su sabiduría pude orientarme.

A NUESTRO TUTOR: por brindarnos parte de su tiempo en la realización de nuestra monografía por brindarnos su apoyo y corrección en todo este tiempo.

HEISSELL ELIETTE REYES MANZANARES.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



DEDICATORIA

Dedico el presente Trabajo:

A DIOS: por guiar mi camino, su amor y permitirme llegar a realizar ésta etapa de mis estudios.

A MIS PADRES: por su apoyo, dedicación, orientación y ayuda económica para poder alcanzar mis metas.

A NUESTRO TUTOR: por guiarnos, facilitarnos la información necesaria y la orientación a lo largo de nuestra investigación.

“EL QUE AMA LA INSTRUCCIÓN, AMA LA SABIDURÍA”

AURA STELLA RODRÍGUEZ ESPINOZA.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



TEMA.

Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa en cinco especies vegetales de la región de Ometepe de Nicaragua, mediante espectrofotometría UV-VIS.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



OBJETIVO GENERAL.

Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa en cinco especies vegetales de la región de Ometepe de Nicaragua, mediante espectrofotometría UV-VIS.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Realizar las diluciones a partir de extractos secos etanolicos.
- Determinar a través de bioensayos cual de las cinco especies vegetales contiene mayor capacidad inhibitoria en la Xantina oxidasa.
- Interpretar los resultados obtenidos.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



INTRODUCCIÓN.

En la actualidad las enfermedades ocasionadas por el ácido úrico (artritis y gota) ocupan el segundo lugar de mayor ingreso de pacientes al programa de crónicos sobre todo en pacientes de 45 a 55 años de edad, son enfermedades frecuentes, ya que de cada 100 a 300 personas la padecen; aunque estudios demuestran que afectan de 2 a 3 veces más a la mujer; dichas patologías son tratadas con alopurinol (fármaco análogo de la hipoxantina) el cuál al reaccionar con la xantina oxidasa produce haloxantina que es más soluble y de fácil excreción; su uso continuo ha conllevado a efectos contraproducentes para la salud de los pacientes ya que controla, pero no elimina la súper producción de ácido úrico, siendo necesario encontrar nuevas alternativas para el control y prevención de dichas patologías. (8).

Los estudios realizados con xantina oxidasa (enzima que cataliza la oxidación de hipoxantina y xantina a ácido úrico), muestran que ésta, al ser inhibida, disminuye el exceso de este en el torrente sanguíneo y por lo consiguiente la cristalización y acumulación de ácido úrico en las articulaciones, riñón y tejidos musculares, controlando así las enfermedades ocasionadas por ésta sustancia. (8).

En países como Bolivia se han realizado estudios que demuestran que aparte de fármacos sintéticos, existen plantas capaces de inhibir a la xantina oxidasa. Esto a través de plantas que se cree que tienen alguna acción contra las afecciones reumáticas y problemas de gota. Evaluándose 26 especies de las cuales 11 presentaron actividad inhibitoria frente al alopurinol teniendo un



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



porcentaje de 55% a una concentración de 120 ug/ml, considerándose positivas aquellas plantas con una inhibición mayor al 25% por tratarse de extractos crudos, entre las especies más representativas figuran la Escallonia

Millegrana (najra) 43,87%, *Salvia bridgesii* (salvia), 47,86% *Senna birostris* (sewenca) 41,91%.

Otros estudios en Bangladesh en Asia donde el 80% de la población depende de sistemas tradicionales basados en plantas medicinales, razón por la cual los llevó a realizar estudios en un total de 500 especies vegetales que se creía, tenían valor medicinal, de estas a dos de las especies se les realizó espectrofotométricamente determinación de inhibición de Xantina Oxidasa obteniéndose los siguientes resultados *Shorea robusta* Gaertn, demostró la mejor actividad con un 60 % de inhibición, mientras que *Emblica officinalis* Gaertn, exhibió 48 % inhibición considerándose estos satisfactorio para ellos.

Recientemente se realizó un estudio por químicos de la Universidad Tecnológica de Pereira, los que tenían por objetivo inhibir a la xantina con catorce especies vegetales de la familia Melastomatáceas mediante técnicas espectrofotométricas evaluando de esta manera el comportamiento de las fracciones frente a la xantina oxidasa. Hasta el momento son los únicos ensayos más relevantes que demuestran la efectividad de plantas medicinales con potencial de inhibición de la enzima xantina oxidasa, en donde el compuesto Flavonoide ha sido el causante de la inhibición.

Nuestra práctica monográfica se enfoco en 5 especies vegetales las cuales la población las utiliza como medicina alternativa frente a las enfermedades ocasionadas por el ácido úrico , por lo cual nosotras queremos hacer constar cual de estas especies ejercen ésta acción, realizando esto mediante espectrofotometría UV-VIS, a través de bioensayos, a una longitud de onda de 290nm.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



MARCO TEÓRICO.

El bioensayo es un Proceso experimental mediante el cual se determinan las características y la fuerza de una sustancia potencialmente tóxica o de un desecho metabolito, a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio. (5).

Un bioensayo usa un organismo vivo, usualmente una planta o bacteria, como un agente de prueba para la presencia o concentración de un compuesto químico o una enfermedad. La idea es escoger un agente de prueba que es muy sensitivo a la condición que estás probando. (6).

Diferentes plantas son frecuentemente usadas como bioensayos porque responden en maneras esperadas y son muy sensibles a la condición que se está probando. (6)

Clasificación de bioensayos.

Existen una gran variedad de bioensayos dirigidos al análisis de sustancias químicas puras o complejas. Figurando los siguientes:

Bioensayo de toxicidad: Los bioensayos de toxicidad son intensamente utilizados en países desarrollados con el objeto de evaluar en forma efectiva y eficiente los efectos tóxicos, agudos y crónicos de la contaminación sobre organismos vivos. Permiten resolver situaciones de incertidumbre respecto de los efectos ambientales de las descargas de sustancias de desecho. Hasta ahora, excepto por esfuerzos pioneros de algunas Industrias, los Bioensayos de toxicidad no han sido utilizados en evaluaciones ambientales realizadas en



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



nuestro país. Sin embargo, tanto los proyectos de legislación ambiental, como sus reglamentos, los consideran como una tecnología adecuada para evaluar los efectos biológicos de residuos industriales y/o domésticos sobre las aguas continentales y costeras en países desarrollados. (9)

Bioensayos de toxicidad/carcinogenicidad: Los bioensayos de toxicidad/carcinogenicidad se consideran dentro de las pruebas más importantes a las cuales tiene que ser sometido un compuesto destinado al consumo por seres humanos. En este sentido, la Agencia Internacional de Cáncer (IARC)⁵ ha definido que en ausencia de datos adecuados en el ser humano, es biológicamente plausible y razonable considerar como agentes cancerígenos aquellas sustancias que en las pruebas con animales de laboratorio se detecten evidencias de carcinogenicidad. Estas pruebas no sólo permiten reconocer la capacidad potencial de producir tumores, sino también posibilitan conocer sus efectos a largo plazo sobre los aparatos y sistemas corporales, lo que es de suma importancia a fin de valorar otras posibles influencias perjudiciales sobre la salud. (10)

Además de los antes mencionados existen otros bioensayos que se hacen tanto *In vitro* como *In vivo*, entre esto tenemos:

In vitro.

- Procedimiento anti cáncer.
- Ensayo anti malarico.
- Ensayo promastigotes leishmaniacidal.
- Ensayo amastigote leishmaniacidal.
- Ensayo antihelmíntico.
- Ensayo de agregación de plaqueta.
- Bioensayo comunes en enzimas proteasas, tiroxinaza (inhibición).(11).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Invivo.

- Ensayo antihelmíntico.
- Ensayo de hepatoprotectividad. (Hepatotxico). (11).

Hipoxantina.

Base purínica soluble en ácidos y álcalis que resulta del catabolismo de la Adenina y de la Inosina (hipoxantosina), y que, a través de la etapa de xantina, es oxidada a ácido úrico. Presente en forma libre (en la orina) o en combinación (en los nucleósidos). Factor de crecimiento (factor X) para algunos microorganismos, antagoniza la acción inhibidora del crecimiento de las sulfamidas. (2).

Xantina.

Producto intermedio de gran importancia en el metabolismo de los ácidos nucleicos y las bases purínicas Precursor del ácido úrico, formado por la acción de la xantinoxidasa Precursor también de compuestos presentes en los nucleósidos y los nucleótidos Los tres derivados de xantina de mayor interés en medicina son: cafeína, teobromina y teofilina. (2).

Xantino oxidasa.

Enzima de SCHARDINGER: enzima que contiene Fe y Mo; deshidrogenasa aerobia del tipo de las enzimas flavo proteínicas, uno de los fermentos amarillos que cataliza la reacción general: xantina - H₂O + O₂ = ácido úrico + H₂O₂ (hipoxantina ® xantina). (2).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Inhibidores de la Xantina oxidasa.

La xantina oxidasa es la enzima clave implicada en el control de la producción de ácido úrico. El tratamiento con los inhibidores de xantina oxidasa disminuye la cantidad de ácido úrico formado e incrementa la cantidad de los precursores solubles hipoxantina y xantina que se excreta fácilmente por la orina por tanto los inhibidores de la xantina oxidasa se emplea en el tratamiento de la gota. El alopurinol es un análogo de la hipoxantina y es el inhibidor de la xantina oxidasa que se utiliza con frecuencia. Tiene una serie de acciones:

- Es un inhibidor competitivo de la xantina oxidasa.
- La enzima de recuperación puede catalizar la adición de ribosoma -5 – fosfato a alopurinol formando el alopurinol ribonucleótido. (3). **(anexo1)**.

Ácido úrico.

El **ácido úrico** es un compuesto orgánico de carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno. Su fórmula química es $C_5H_4N_4O_3$. (1).

El ácido úrico es un ácido soluble en álcalis, pero difícilmente en agua, que se forma en el hombre y en los primates como producto final del metabolismo de los ácidos nucleicos o las purinas ingeridas con la alimentación o producidas por la célula, por la acción de la xantina oxidasa sobre la xantina y la hipoxantina, y que es eliminado por la orina 0,08 a 1 gr./24 horas aproximadamente; aumenta con una dieta rica en proteínas y después del tratamiento con corticoides y uricosúricos. (2); también es considerado como un producto de desecho del metabolismo de nitrógeno en el cuerpo humano (el producto de desecho principal es la urea), y se encuentra en la orina en pequeñas cantidades. En algunos animales, como aves, reptiles y muchos artrópodos, es el principal producto de desecho, y se expulsa con las heces; los



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



animales que excretan mayoritariamente ácido úrico se denominan uricotélicos. (1) El ácido úrico es sustancias que se forma principalmente en el hígado a partir de los núcleos celulares animales como la carne o el pescado, y que se eliminan a través de la orina. (1)

Lo que ocurre es que si su producción es muy abundante, por ejemplo en un consumo excesivo de carne, entonces no se elimina completamente, acumulándose sobre todo en la inmediación del cartílago, y por lo tanto produciendo enfermedades tan molestas y dolorosas como es la propia gota. (1).

Cuando hablamos de ácido úrico hablamos muchas veces de artritis y gota. La artritis es curable perfectamente siempre y cuando se siga un régimen especial de alimentación complementándolo con plantas medicinales que purifiquen la sangre, eliminen ácido úrico y activen las funciones de los órganos de nuestro cuerpo. (2).

Las personas que padecen de artritis manifiestan por lo general síntomas como jaquecas, eczemas, urticaria, reumatismos gotosos, gota, dolores de articulaciones, lumbago, dolor de cabeza, ciática, dolores nerviosos en diversos lugares del cuerpo, piedras en los riñones, erupciones en la piel, etc.(2).

Lo más importante es la alimentación. Deben desecharse carnes, fritos, garbanzos y judías secas, café, tabaco, alcohol y todo tipo de vida sedentaria. Por el contrario se debe de comer mucha fruta y zumos así como vegetales, especialmente el apio crudo en forma de ensalada. (2).

En la sangre humana, la concentración de ácido úrico comprendida entre 3,6 y 8,3 mg/dl. Es considerada normal por la Asociación Médica Americana. (1) La tasa normal de ácido úrico en la sangre, en ayuno, es de 20 a 40 mg./litro (3); la eliminación cotidiana de ácido úrico a través de la orina es, con dieta mixta,



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



de 0,5 a 1 gr. aunque se pueden encontrar niveles más bajos en los vegetarianos. El aumento de ácido úrico en sangre no sólo puede estar relacionado con la gota, sino que puede ser simplemente una hiperuricemia, que presenta algunos de los síntomas anteriores o puede ser asintomática. Sin embargo cuanto mayor es el aumento de ácido úrico en sangre mayores son las posibilidades de padecer afecciones renales, artríticas, etc. (1).

La mayor parte del ácido úrico se disuelve en la sangre y viaja a los riñones, donde sale a través de la orina. Si el cuerpo produce demasiado ácido úrico o no lo elimina lo suficiente, la persona se puede enfermar. Los altos niveles de ácido úrico en el cuerpo se denominan hiperuricemia. (2).

El aumento de la concentración de ácido úrico en la sangre (hiperuricemia) y, por consiguiente, en la orina (hiperuricuria) puede observarse en diversas condiciones morbosas: en la gota y en las enfermedades en que el metabolismo de las NUCLEOPROTEÍNAS se encuentra incrementado como la leucemia, Policitemia, etc. (2).

Un buen tratamiento para bajar las concentraciones altas de ácido úrico sería la utilización del Alopurinol ya que es un inhibidor de la xantina oxidasa. (7).

Formación del ácido úrico.

Solo se necesitan dos pasos catalizados por la enzima xantina oxidasa:

1. oxidación de hipoxantina a xantina por la xantina oxidasa.
2. oxidación de la xantina a ácido úrico por la misma enzima. (3).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



La xantina oxidasa es la enzima clave implicada en la degradación de la purina es inusual en lo que se refiere a que es una flavo proteína que contiene molibdeno y hierro y que usa oxígeno molecular. (3).

En humanos el ácido úrico que se forma se excreta por la orina. El ácido úrico es insoluble. El pH ácido de la orina le permite precipitar en concentraciones elevadas en forma de urato sódico. La hiperuricemia es decir el aumento de los niveles séricos de ácido úrico puede producir gota. (3).

Inhibidores de la biosíntesis de ácido úrico.

El ácido úrico es el producto de metabolismo de las bases purínicas resultantes de las xantinas por la enzima xantina oxidasa. (3)

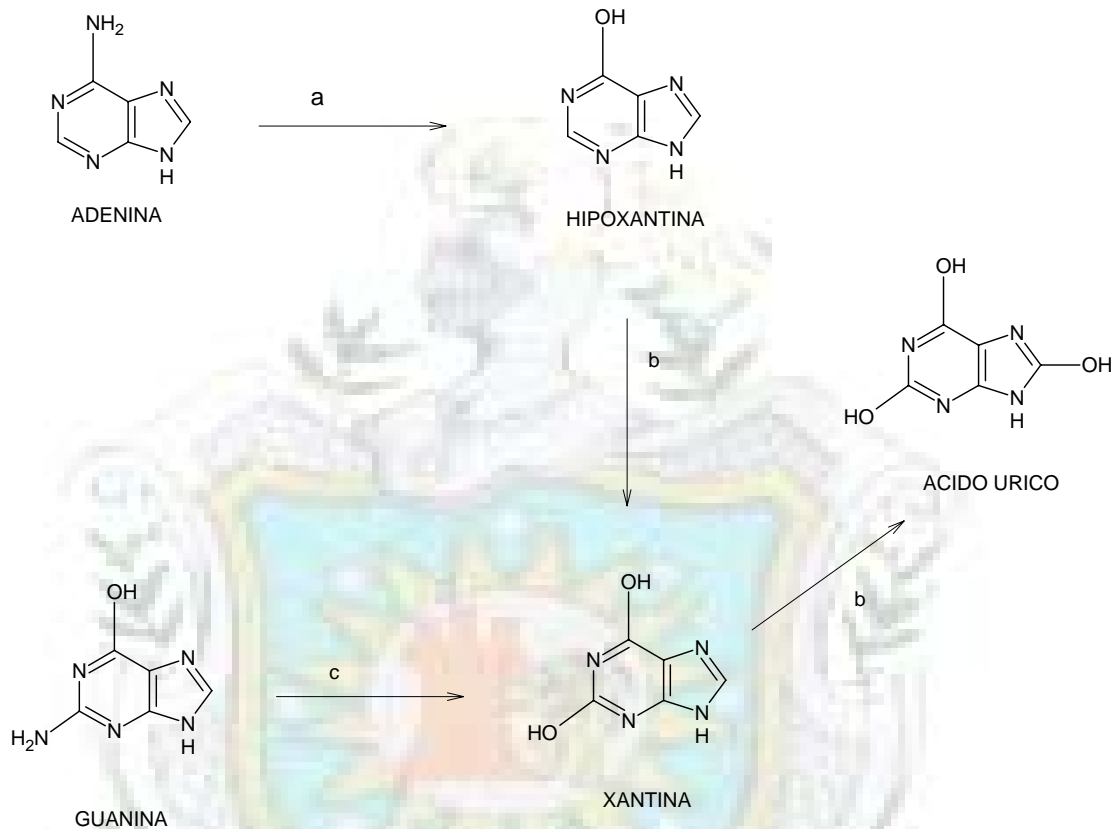




Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Metabolismo de las bases puricas.



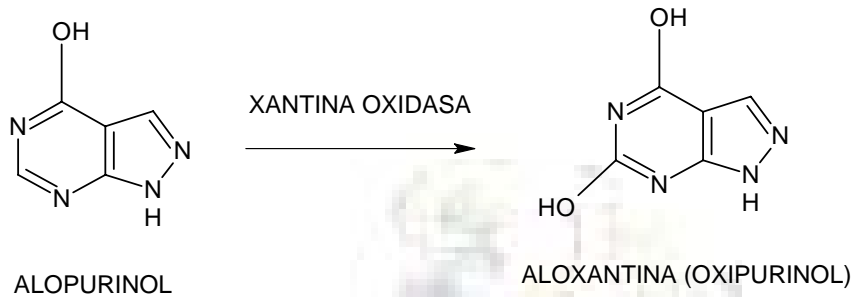
a: adenina desaminasa; b: xantina oxidasa; c: guanina desaminasa.

Los niveles elevados de ácido úrico en plasma pueden dar lugar a su cristalización a las articulaciones, lo que origina trastornos inflamatorios característicos de la gota. Los inhibidores de la xantina oxidasa suelen emplearse para el tratamiento de esa enfermedad. (3)

El alopurinol es un inhibidor de la xantina oxidasa diseñado inicialmente como antimetabolito de las bases puricas con potencial utilidad como antineoplásico. El alopurinol es un inhibidor reversible. (3).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Mecanismo de acción.

El alopurinol actúa sobre el catabolismo de las purinas sin modificar su biosíntesis. Reduce la producción de ácido úrico al inhibir las reacciones bioquímicas que conducen a su formación. El alopurinol es un análogo estructural de la base púrica natural hipoxantina y actúa como un inhibidor de la xantina-oxidasa, la enzima responsable de la conversión de hipoxantina a xantina y de xantina a ácido úrico el producto final de catabolismo de las purinas en el hombre. (4).

El alopurinol es metabolizado al oxipurinol que también es un inhibidor de la xantina oxidasa. (4).

Se ha comprobado que la reutilización de la xantina y de la hipoxantina para la síntesis de los nucleótidos y de los ácidos nucleicos se mejora cuando sus oxidaciones son inhibidas por el alopurinol y oxipurinol. Esta reutilización no afecta el normal anabolismo de los ácidos nucleicos. Como resultado de la inhibición de la xantina oxidasa, en los pacientes tratados con alopurinol se han detectado unos niveles de xantina + hipoxantina de 0.3 a 0.4 mg/dl en comparación con los niveles normales de aproximadamente 0.15 mg/dl. El valor máximo detectado, de 0.9 mg/dl de estas oxipurinas después de dosis muy altas de alopurinol están muy por encima de la saturación (> 7 mg/dl). (4).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



El aclaramiento renal de la hipoxantina y de la xantina es unas 10 veces mayor que el del ácido úrico. Los niveles urinarios más elevados de estos compuestos no están acompañados por problemas de nefrolitiasis. Solo ha habido tres informes de casos de cristaluria por xantinas: en dos casos se trataba de pacientes con el síndrome de Lesh-Nyhan (caracterizado por una producción excesiva de ácido úrico por la carencia de la hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HGPRTasa). Esta enzima es necesaria para la conversión de la hipoxantina, la xantina y la guanina a sus respectivos nucleótidos). El tercer caso era un paciente con un linfosarcoma en el que se producían grandes cantidades de ácido úrico por la lisis de las células durante la quimioterapia. (4).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



MATERIAL Y MÉTODO.

Universo: plantas medicinales encontradas en la Isla de Ometepe.

Muestra: cinco especies vegetales utilizadas en la práctica.

- Taranta hoja y fruto.
- Grama para los riñones raíz y hojas.
- Laurelio.
- Hoja para el dolor.
- Hoja de chancho.

Tipo de estudio: es de tipo experimental.

Variable:

Dependiente: inhibición enzimática

Independiente: extractos.



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



Variable.	Definición.	Medida.
Extracto.	Sustancia que se extrae de otra sustancia, o plantas por medio de solventes orgánicos. U otro tipo de sustancia que permita su extracción.	A través de la apariencia.
Enzima.	Sustancia orgánica soluble que actúa como catalizador en los procesos de metabolismo.	Se lee en 290 nm la formación del ácido úrico.
Inhibición.	Suspensión de un proceso fisiológico, deteniendo o debilitando el curso de otro y de impedir su acción.	En porcentaje.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Material.

- 77 tubos de ensayo.
- 1 balón de 500 ml.
- 2 balones de 100 ml.
- 1 balón de 200 ml
- 1 beacker de 500 ml.
- 2 beacker de 100 ml.
- 1 micro pipeta de capacidad 200 microlitros.
- 1 micro pipeta de capacidad de 10.000 microlitros.
- 2 probetas de 100 ml.
- Pipetas:
 - 5 de 1 ml (cerológicas).
 - 1 de 2 ml (cerológicas).
 - 1 de 10 ml (volumétricas).
- Espátulas.
- Papel aluminio.
- Magneto.
- Taype.

Equipo.

- pH-chímetro.
- Balanza analítica.
- Cocina.
- Agitador brasonic.
- Agitador magnético.
- Reactivos.
- Espectrofotómetro UV-VIS.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Reactivos.

- Fosfato monobásico de sodio.
- Xantina (sustrato).
- Xantina oxidasa (enzima).
- Dimetil sulfóxido.
- Ácido clorhídrico.
- Alopurinol.
- Hidróxido de sodio.
- Metanol.
- Agua.

PROCEDIMIENTO.

Preparación de extractos.

Tomar la parte de la planta a utilizar en el estudio, seguidamente pesar una cantidad determinada de esta, proceder a licuar con el solvente y filtramos en cápsulas de porcelana, dejándolo en reposo por 2 días.

Preparación de los reactivos.

Vehículo: es dimetil sulfóxido (DMSO) + agua y se prepara de igual manera que la solución que se agrega al extracto de la planta.

Alopurinol: se prepara pesando 2 mg. En 100 ml. De buffer. PH 7.5 (esto es porque se necesita una concentración 0.15M). (Preparar el mismo día)

Extracto de la planta: 2 mg. Del extracto en 60 mcl de DMSO + 5,940 mcl (5.94 ml) de agua.

Xantina oxidasa (enzima): 400 mcl en c.s.p 3 ml de buffer. (Preparar el mismo día).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Xantina (sustrato): 4 mg. En 200 ml. De buffer. (Preparar el mismo día)

Práctica. (Ver anexo 2 y 3).

Teniendo ya las diluciones completas procedemos a leer en el espectro fotómetro UV- visible.

Luego sacamos el promedio de las muestras de las soluciones y de los patrones y procedemos a realizar cálculos para obtener resultados, estos fueron procesados en el programa Microsoft EXEL utilizando la siguiente

Fórmula %= ABS (((patrón) – (muestra) / (patrón)) * 100) seguidamente realizamos análisis de los resultados, obteniendo así la respuesta a nuestros objetivos planteados.



—



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



RESULTADOS.

- | | |
|----------------------------------|------------------------|
| A. taranta hoja | E. Laurelio. |
| B. taranta fruto. | F. hoja de chancho. |
| C. grama para los riñones (hoja) | G. hoja para el dolor. |
| D. grama para los riñones (raíz) | |

Tubos.1, 2,3. Extractos de la planta.

Tubo.4 blanco.

Tubos .5, 6,7. Control negativo.

Tubos. 8, 9,10. Control positivo



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.



NOMBRE.	abs.<290nm> Medias.	% de la muestra
TARANTA (HOJA). A.1,2,3 A.5,6,7 A.8,9,10	0.1904 0.223615 0.35567	46,4672309 %
TARANTA (FRUTO). B.1,2,3 B.5,6,7 B.8,9,10	0,161245 2,09E-02 0,35667	54,791544 %
GRAMA PARA LOS RIÑONES (HOJA) C.1,2,3 C.5,6,7 C.8,9,10	0,26007 1,82E-01 0,34567	24,7635028 %
GRAMA PARA LOS RIÑONES (RAIZ) D.1,2,3 D.5,6,7 D.8,9,10	0,312285 6,58E-03 0,35567	12,198105 %



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



LAURELIO. E.1,2,3 E.5,6,7 E.8,9,10	0,111115 3,14E-02 0,35667	68,8465528 %
HOJA DE CHANCHO. F.1, 2,3. F.5,6,7 F.8,9,10	0,15425667 3,04E-03 0,35367	56,3840115 %
HOJA PARA EL DOLOR. G.1, 2,3. G.5, 6,7. G.8, 9,10.	0,17452 1,79E-03 0,43567	59,9421581 %

PORCENTAJE DE REFERENCIA DE ALOPURINOL: 62.87%



ANÁLISIS DE RESULTADOS.

A través de la práctica realizada sobre la inhibición de la xantina oxidasa en especies vegetales encontradas en Nicaragua en la región de Ometepe podemos decir, que de las siete especies en estudio cuatro de ellas se aproximan al porcentaje de inhibición de nuestro patrón siendo el porcentaje de Alopurinol de 62.87%, tomando como inhibición alta aquellas especies con un porcentaje mayor del 50%, entre las que figuran el Laurelio con un porcentaje de 68.84%, hoja para el dolor con 59.94%, hoja de chancho con 56.38% y la taranta fruto con un 54.79%, donde el Laurelio es el único con un porcentaje mayor que el patrón 62.87%.

Esto significa que nuestra muestra (Laurelio) tiene mayor porcentaje de inhibición hacia la xantina oxidasa y que es posible que sea capaz de actuar de la misma forma que el Alopurinol con respecto a los desordenes del ácido úrico; aunque consideramos necesario realizarles ensayos de toxicidad para estar seguro de que este producto puede ser utilizado medicinalmente y de forma segura en la sociedad.

En relación a las tres plantas (taranta, grama hoja y grama raíz) que no ejercen efecto inhibitorio ya que presentaron un porcentaje inferior al tomado como referencia (de 46.4672%, 24.76%,12.19% respectivamente) sobre la enzima, podemos decir que no contienen en su composición compuestos para dicha inhibición, o que pueden existir sustancias en su misma composición que bloquean el proceso de inhibición enzimática, por lo que se debería considerar la realización de estudios biodirigidos para de esta manera determinar cuales son los compuestos que están influyendo en la inhibición o si bien, se llega a la conclusión que no presentan efecto inhibitorio sobre la enzima xantina oxidasa.



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



CONCLUSIÓN.

En el estudio realizado para determinar la inhibición de la Xantina Oxidasa a las cinco especies vegetales estudiadas y a través de los resultados se concluyó que existen especies de origen vegetal como el Laurelio, Hoja para el dolor, Hoja de chancho y la taranta fruto que en su composición vegetal contienen compuestos, que son capaces de ejercer acción inhibitoria semejante al del Alopurinol frente a la xantina oxidasa. Cabe mencionar que el extracto de la planta conocida comúnmente en nuestro país como Laurelio es a la que se le atribuye mayor poder inhibitorio frente a la xantina oxidasa demostrándose esto en los resultados obtenidos.

Estás cuatro especies con esta propiedad descubierta y científicamente estudiada, pueden en un futuro llegar a formar parte del grupo de fármacos que actúan ante las enfermedades provocadas por el ácido úrico. Siendo de mucha utilidad para la humanidad, ya que estos pueden contar con nuevas alternativas para combatir dichas patologías, contribuyendo de esta forma a la amplitud de la industria farmacéutica y al desarrollo de la medicina natural.



RECOMENDACIONES.

- Preparar los reactivos el mismo día del ensayo.

- Filtrar las muestras antes de realizar las diluciones.

- Realizar por triplicado las lecturas de las muestras para obtener menores errores.

- Realizar estudios que comprueben su efectividad y al mismo tiempo su toxicidad como ensayos biodirigidos, ensayos de toxicidad.

- Realizar estudios que permitan conocer cual es el compuesto presente en la composición química de la especie con actividad inhibitoria.

- Realizar estudios fitoquímicos que nos permitan identificar y cuantificar a las especies de estudio con mayor precisión.



BIBLIOGRAFÍA.

1. *Ácido úrico* - Wikipedia, la enciclopedia libre

http://es.Wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_%C3%BArico.

2. ECOALDEA.COM

http://www.ecoaldea.com/enfermedad/acido_urico.htm.

3. Lo esencial en metabolismo y nutrición resultado de la búsqueda de libros de google.

<http://search.live.com/results.aspx?srch=106&FORM=AS6&q=alopurinol.books.+google.con%2fbooks%3fisbn%3d+3481737351>.

4. VADEMECUM: de la A a la Z

<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a038.htm>.

5. Término.

http://attila.inbio.ac.cr:7777/pls/portal30/INBIO_BIODICTIONARY.DYN_WORD_DETAIL.show?p_arg_names=_show_header&p_arg_values=YES&p_arg_names=pTerminos&p_arg_values=Bioensayo.

6. Bioensayo.

<http://www.ars.usda.gov/is/espanol/kids/fair/sp.link4.htm> -3k.



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



7. Determinación de ácido úrico y TGO/TGP en suero - Monografias.com
<http://www.monografias.com/trabajos20/acido-urico/acido-urico.shtml>

8. SCIENTIA et technica año XIII N° 33, Mayo del 2007. Pág. 307 – 310.

9. Revista Cubana de Enfermería - Fundamentos metodológicos de los...
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03191995000300001.

10. LABORATORIO DE BIOENSAYOS PARA LA EVALUACION Y MONITOREO DE...
<http://www.fondef.cl/bases/fondef/PROYECTO/92/S/D92S1021.HTML>

11. Bioassay Techniques for Drug Development

- Atta- ur –Rahman
- M. Iqbal Choudhary
- William J. Thomsem

12. plantas que curan N°2.

- Alejandro floripe.
- Vilma altamirano.

13. plantas que curan N°3.

- Alejandro floripe.
- Vilma altamirano.

14. flora útil etno botánica de Nicaragua.

Gobierno de nicaragua ministerio del ambiente y los recursos naturales marena.

Alfredo grijalva pineda pag.176

15. An integrated sistem of classification of flowering pants.



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



Colombia Arthur Cronquist.

Pág.: 895-898

16. plantas de la ciudad de León y sus usos.

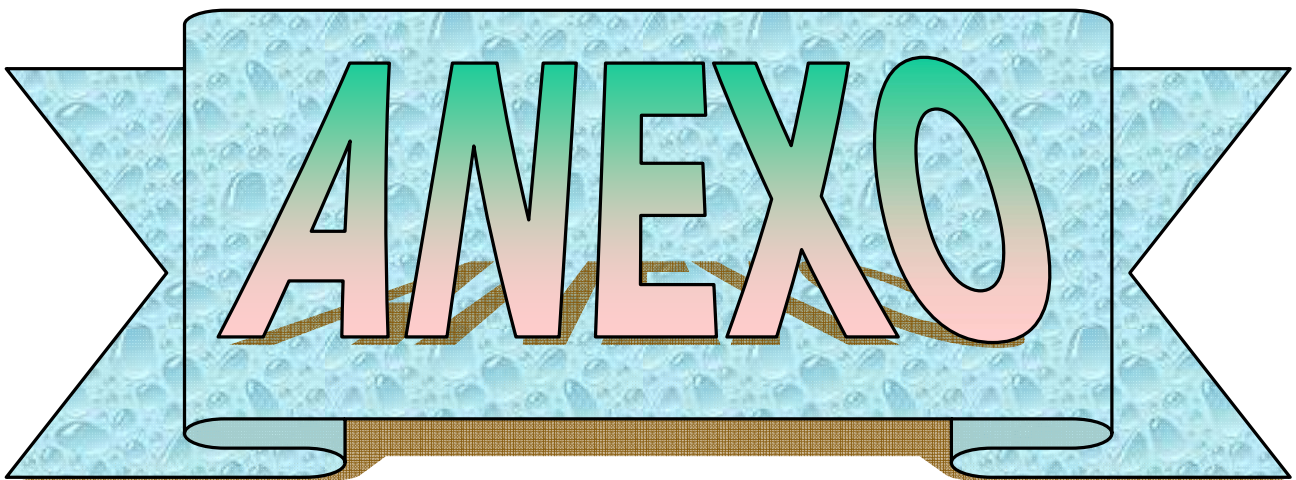
Lic. Dania L. Paguaga.

Biología, Pág. 67





**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



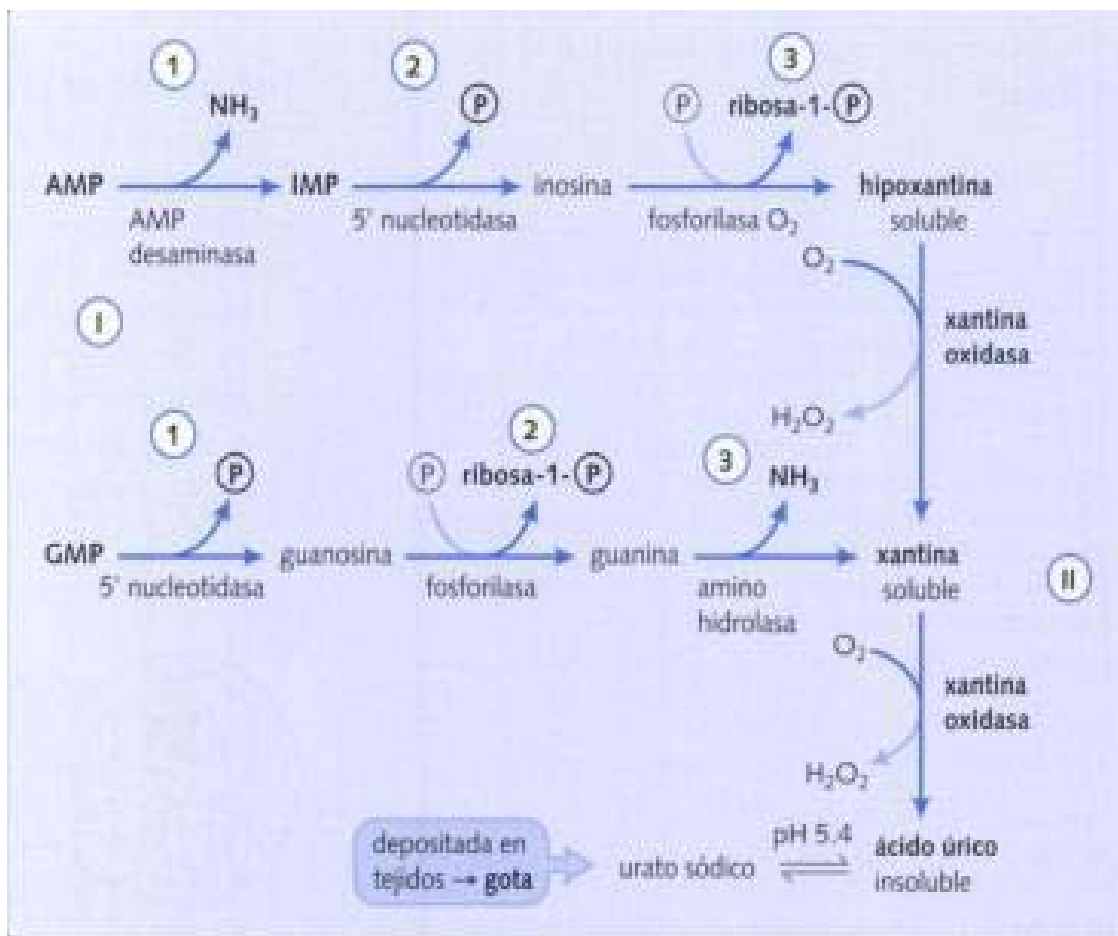


Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Anexo 1.

(Inhibidores de la xantina oxidasa)





Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Anexo 2 (Práctica)

Pesar 2 mg de los extractos
Para la preparación de las
Soluciones madres.

Adicionar a cada extracto
60ml de dimetil sulfóxido
Dejar en reposo un día para
Disolución.

Adicionar 5,940ml de agua
Destilada a cada extracto.

Partimos para hacer diluciones
De cada extracto, la cual estará
Hecha de siguiente manera.



**Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.**



Anexo 3

(Procedimiento)

Bioensayo de actividad xantina oxidasa.				
	Blanco	Enzima sustrato.	Inhibidor.	Enzima extracto.
1	Vehículo (1ml).	Vehículo (1ml).	Alopurinol (1ml).	Extracto de la planta.
2	Buffer pH 7.5 (2.9ml a todas).			
3		Enzima (0.1ml).	Enzima (0.1ml).	Enzima (0.1ml).
4	Preincubación 25°C x 15 minutos.			
5	Sustrato (2ml).	Sustrato (2ml).	Sustrato (2ml).	Sustrato (2ml).
6	Incubación 25°C x 30 minutos.			
7	HCL (1ml). Enzima (0.1ml).	HCL (1ml).	HCL (1ml).	HCL (1ml).



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Anexo 4

Plantas utilizadas.

Nombre común: Grama.

Nombre científico: paspalum notatum flugge.

Descripción botánica: Hierba perenne que se extiende por rizomas de los que brotan tallos verticales cortos. Las vainas largas de las hojas cubren los tallos, las láminas tienen hasta 15cm de largo y 8mm de ancho la inflorescencia es un par de racimos de 3 a 9 cm de largo, con espigas lisas y verdes. Nativo desde México hasta argentina. Crece desde el nivel del mar hasta unos 1,500msnm. Zacate común.

Composición química: toda la planta contiene potasio y fructosa.

Parte que se utiliza: planta entera (raíz y hoja).

Propiedades: diurético, calma dolores reumáticos, elimina los cálculos renales.

Usos medicinales: Golpes internos, infecciones en los riñones, inflamaciones, reumatismo, gota. (12)



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Nombre común: Hierba para el dolor (hoja para el dolor)

Nombre científico: hyptis verticillata.

Descripción: es un árbol de 2mts. De altura, flores blancas verduscas, separadas formando un racimo largo. Crece en la maleza, lugares abandonados, es originaria de Centroamérica.

Composición química: la hoja y el tallo contienen triterpenos, terpenos, sustancias tónicas, podofilotexina, esteroides, ácido rosmarínicos.

Parte que se utiliza: hoja, tallos y flores.

Usos medicinales: bajar fiebre, dolor de estómago, dolor de huesos, reumatismo, sarna, picadura de insectos, mordeduras de serpientes dolor de espalda. (13



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Nombre común: Laurelío.

Nombre científico: cordia alliodora.

Descripción: es un árbol de 6mts. De altura, flores blancas. La corteza tiene olor a ajo. Crece en bosques secos y húmedos tropical a orillas de caminos.

Composición química: la planta contiene alliodrina, terpenoides, cordio cremeno.a. Cardioquinol, alioquinol, cardiodonel, cardolinol, y cordial.

Parte que se utiliza: hojas, tallos tiernos.

Propiedades: cicatrizantes, emolientes.

Usos medicinales: cicatrizantes de heridas y úlceras, reumatismo, dolores musculares, contra enfermedades venéreas, diarreas, apurar partos. (13)



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Nombre común: Taranta.

Nombre científico: Ipornea carnea.

Familia: convolvulácea. (Familia camote).

Descripción: en Nicaragua se conocen 15 géneros y 84 especies, siendo el género con más especie la Ipornea con 47.

Es conocida como “amor escondido o tarada “es nativa de Sudamérica y probablemente del sur de Centroamérica, en la actualidad introducida en todo los trópicos. Es cultivada como ornamental por sus flores que van de blanca a rosado intenso. Esta planta es reportada en el punto de tisma (Masaya), es tóxica en el ganado ya que cuando lo come se vuelve loco corren sin control.

Composición: la planta contiene alcaloides, antiosaninos, cianógenos, ácido cafeico, ácido elágico, contiene pequeños cristales de oxalato de calcio. El fruto contiene: aceite, proteína y hemicelulosa (comida de reserva).

Parte que se utiliza: hoja y fruto.

Propiedades: no tiene

Uso medicinal: no tiene. (14 y15)



Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Nombre común: Huevo de chancho (hoja de chancho)

Nombre científico: Stemadenia oborata.

Descripción: árbol de 8mts. De altura con hojas elípticas y abobadas y ápice obtuso acortamente acuminado, base obtusa.

Inflorescencia con flores amarillas, fruto aplanado ovoide, café.

Distribución: muy común en bosques secos, zona pacífica, en Nicaragua, México, Venezuela y costa del Ecuador, disyunta en Bolivia.

Fenecología: florece y fructifica durante todo el año.

Parte que se utiliza: la hoja.

Usos reportados: ornamental. Es plantada en patios y utilizada como sombras.

Propiedades: medicinal, utilizada para curar problemas renales y dolores de cabeza. (16)

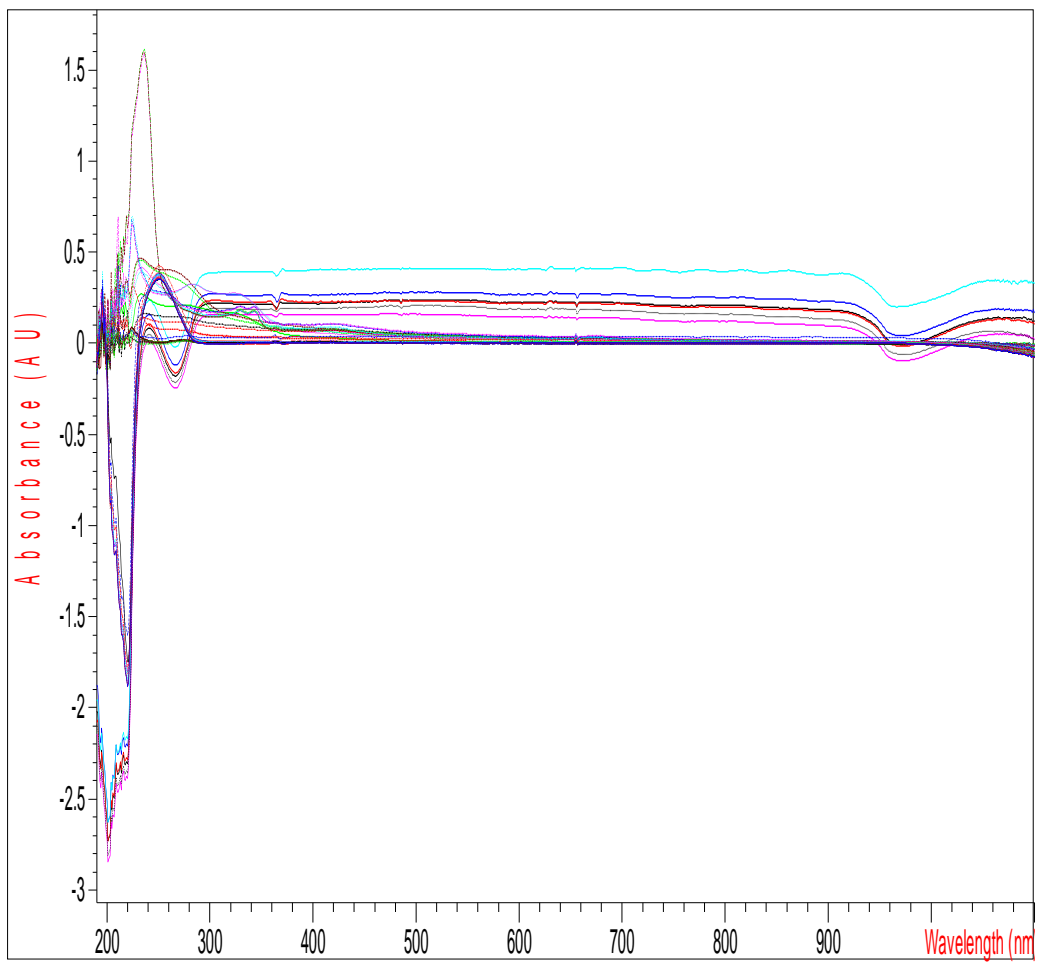


Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa
Mediante espectrofotometría UV-vis.



Anexo 5

Grafico Muestras





Determinación de la inhibición de la Xantina oxidasa Mediante espectrofotometría UV-vis.



Anexo 6

Grafico Alopurinol

