



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2025-FFBB-008

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

“Evaluación de la actividad antiinflamatoria a partir de un gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo)”

Presentado por:

MORENO AYBAR, ANDERSON JAIR

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **11%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20154036

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad. Observaciones:

Ica, 23 de enero de 2025

.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Facultad de Farmacia y Bioquímica



“Evaluación de la actividad antiinflamatoria a partir de un gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo)”

Salud Pública y conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR

BACH. MORENO AYBAR, ANDERSON JAIR

Ica-Perú

2024

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi familia que, por el fruto de su incansable esfuerzo, me he podido formar como un profesional. A mis padres, que por su constante fortaleza y apoyo moral hacia mi persona han hecho que este camino se cumpla a pesar de todas las dificultades. A mis hermanos, que ven en mi la constante resiliencia y un ejemplo a seguir a futuro.

El Autor.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento especial a la Facultad de Farmacia y Bioquímica y su cuerpo docente por compartirnos sus conocimientos y formarnos como profesionales.
A todos aquellos que contribuyeron al desarrollo de mi investigación.

El Autor.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
INDICE DE CONTENIDOS	iv
INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	11
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	12
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	12
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	13
1.5. MARCO TEORICO	13
1.5.1. <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo)	13
1.5.2. Inflamación	16
1.5.3. Fisiopatología de la Inflamación	17
1.5.4. Fitoterapia	26
1.5.5. Gel	27
1.6. MARCO CONCEPTUAL	28
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	30
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACION	30
2.2. HIPÓTESIS	30
2.3. VARIABLES	30
2.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	31
2.5. POBLACIÓN Y MUESTRA	31
2.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	31
2.6.1. Preparación y tratamiento de la muestra	31
2.6.2. Muestra para la certificación taxonómica	32
2.6.3. Marcha fitoquímica	32
2.6.4. Reacciones de identificación de metabolitos secundarios	33
2.6.5. Obtención del extracto alcohólico por Percolación	35
2.6.6. Elaboración del gel con actividad antiinflamatoria a base del extracto alcohólico de las flores <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo) al 2%	35
2.7. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL GEL A PARTIR DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO LAS FLORES DE <i>Lepidium Sativum</i> (mastuerzo).	36

2.7.1. Aspecto	36
2.7.2. Color	36
2.7.3. Olor	36
2.7.4. Consistencia	36
2.7.5. Análisis Fisicoquímico	36
2.8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	36
2.8.1. Inducción de edema auricular	36
2.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION	38
III. RESULTADOS	39
3.1. Resultados obtenidos de la Marcha Fitoquímica preliminar especie <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo)	39
3.2 Resultados de la actividad Antiinflamatoria	41
IV. DISCUSION	49
V. CONCLUSIONES	51
VI. RECOMENDACIONES	52
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	53
VIII. ANEXOS	56
8.1. Anexo N° 1 – Permiso de uso de laboratorio	56
8.2. Anexo N° 2 – Certificación botánica	57
8.3. Anexo N° 3 – Flujograma de Marcha Fitoquímica realizada	58
8.4. Anexo N° 4 – Certificado Sanitario de los ratones usados	59
8.5. Anexo N° 5 – Certificado de Aprobación del CEI	60
8.6 Anexo N° 6 – Fotos del Experimento	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Fracción A	39
Tabla N° 2: Fracción B	39
Tabla N° 3: Fracción C	39
Tabla N° 4: Fracción D	40
Tabla N° 5: Fracción E	40
Tabla N° 6: Fracción F	40
Tabla N° 7: Estudio de estabilidad del gel a partir del elaborado a base del extracto alcohólico de <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo) al 2%	41
Tabla N° 8: Resultados del porcentaje de inflamación inducido tras la administración del Aceite de Croton	41
Tabla N° 9: Resultado de la Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de al 5%	42
Tabla N° 10: Resultado de la evaluación del gel con actividad antiinflamatoria elaborado a base del extracto alcohólico de <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo) al 2%	43
Tabla N° 11: Resultado de la Evaluación de la actividad antiinflamatoria del Diclofenaco Gel al 1%	44
Tabla N° 12: Análisis de Varianza	46
Tabla N° 13: Comparaciones en parejas de Tukey	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. N° 1. Planta <i>Lepidium sativum</i>	14
Fig. N° 2. La inflamación	16
Fig. N° 3. Fases evolutivas de los procesos inflamatorios	18
Fig N° 4. ICs simultáneos de 95% de Tukey	47

RESUMEN

El objetivo de la tesis fue determinar la actividad antiinflamatoria del gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

Del material vegetal se recolectaron 8 Kg de flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo), en el distrito de Nuevo imperial, provincia de Cañete. Seleccionándose las de mejor condición, se secaron a la sombra y después de 4 semanas en estufa a 30 °C, se efectuó la molienda. El extracto alcohólico se obtuvo por percolación. Identificándose los metabolitos secundarios con el screening fitoquímico propuesto por la Dra. Olga Lock de Ugaz. El método para evaluar la actividad antiinflamatoria es la inducción del edema auricular con aceite de croton. Los datos obtenidos se trataron con estadísticos descriptivos (MINITAB 18).

Los resultados del screening fitoquímico dieron presencia de grupos taninos, grupos fenólicos libres, flavonoides, antraquinonas, alcaloides, triterpenoides y esteroides, y al determinar la actividad antiinflamatoria del gel elaborado a partir del extracto alcohólico al 2% de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo), presentó una eficacia antiinflamatoria de 83%. Al comparar la eficacia antiinflamatoria del gel elaborado con el extracto alcohólico al 2% de *Lepidium sativum* (mastuerzo), y el fármaco de referencia diclofenaco en gel al 1% (65.7%) concluimos que ambos presentan buena eficacia antiinflamatoria, siendo el gel del extracto al 2% el de mayor actividad antiinflamatoria.

El análisis estadístico ANOVA es significativo (p valor <0,05) y demuestra la hipótesis alterna, es decir, el gel elaborado a partir del extracto alcohólico al 2% de las flores de mastuerzo presenta actividad o efecto antiinflamatorio.

Palabras clave. *Lepidium sativum*, inflamación, AINEs, Fitoterapia, Gel.

ABSTRACT

The objective of the thesis was to determine the anti-inflammatory activity of the gel prepared from the alcoholic extract of the flowers of *Lepidium sativum* (masturtium).

From the plant material, 8 kg of *Lepidium sativum* (masturtium) flowers were collected in the district of Nuevo Imperial, province of Cañete. The best condition flowers were selected, dried in the shade and after 4 weeks in an oven at 30 °C, they were milled. The alcoholic extract was obtained by percolation. The secondary metabolites were identified with the phytochemical screening proposed by Dr. Olga Lock de Ugaz. The method to evaluate the anti-inflammatory activity is the induction of auricular edema with croton oil. The data obtained were treated with descriptive statistics (MINITAB 18).

The results of the phytochemical screening showed the presence of tannin groups, free phenolic groups, flavonoids, anthraquinones, alkaloids, triterpenoids and steroids, and upon determining the anti-inflammatory activity of the gel prepared from the 2% alcoholic extract of *Lepidium sativum* (masturtium) flowers, it presented an anti-inflammatory efficacy of 83%. When comparing the anti-inflammatory efficacy of the gel elaborated with the 2% alcoholic extract of *Lepidium sativum* (masturtium), and the reference drug diclofenac gel 1% (65.7%), we concluded that both presented good anti-inflammatory efficacy, being the 2% extract gel the one with the highest anti-inflammatory activity.

The ANOVA statistical analysis is significant (p value <0.05) and demonstrates the alternative hypothesis, i.e., the gel elaborated from the 2% alcoholic extract of masturtium flowers presents anti-inflammatory activity or effect.

Key words. *Lepidium sativum*, inflammation, NSAIDs, Phytotherapy, Phytopharmaceutical.

I. INTRODUCCIÓN

La inflamación es el síntoma principal de muchas enfermedades que provocan una reacción a agentes agresivos (lesiones, quemaduras, traumatismos o provocadas por enfermedades bacterianas o virales). El sistema inmunológico participa en este proceso, desencadenando eventos celulares, mediadores químicos y cambios vasculares. Durante el proceso inflamatorio, se observan los siguientes signos: Fiebre, Enrojecimiento, Hinchazón, Dolor.

El último informe de la OMS sobre enfermedades no transmisibles (ENT) muestra que las enfermedades cardiovasculares representan la mayoría de las muertes, seguidas del cáncer, las enfermedades respiratorias y la diabetes. Estos cuatro principales grupos de enfermedades inflamatorias son responsables de más de 80% de muertes prematuras. (1)

La investigación sobre las propiedades terapéuticas de los productos herbarios continúa desafiando a la ciencia moderna. Los componentes bioactivos contenidos en los productos a base de hierbas sirven como punto de partida para el desarrollo de fármacos sintéticos y se modifican químicamente en laboratorios farmacéuticos para mejorar sus propiedades y eficacia terapéutica.

Sin embargo, estudios en poblaciones humanas han reportado efectos secundarios causados por estos fármacos, los antiinflamatorios no esteroides. Los antiinflamatorios son de gran consumo entre la población, siendo el diclofenaco tópico el más utilizado con un 27,33%. Las formas farmacéuticas elaborados con extractos de especies vegetales son una alternativa importante para la salud y la población, se venden de forma libre y su uso ahora está respaldado por investigaciones científicas que respaldan su uso. Aceptado con base en Monografías sobre productos herbarios incluidos en la farmacopea. Por lo tanto, es importante que los profesionales de la salud ofrezcan a las pacientes opciones de productos de origen vegetal y brinden asesoramiento con base científica sobre la eficacia y seguridad de estos medicamentos.

La medicina tradicional peruana se practica desde nuestros antepasados y se transmite de generación en generación hasta el día de hoy. Nuestro país tiene una megaflorea muy diversa, que incluye una gran cantidad de plantas medicinales, que aún están poco estudiadas. Una de estas especies es el *Lepidium sativum* que, en un estudio reportado en la India donde la población de Gujarat utiliza *Lepidium sativum* para tratar afecciones inflamatorias como la artritis. Para evaluar su actividad antiinflamatoria, se empleó el método de edema de la pata inducido por carragenina, el fármaco de prueba produjo una actividad antiinflamatoria moderada. (2)

El objetivo de este estudio es verificar los efectos antiinflamatorios de un gel formulado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) recolectados en cañete-Perú. La importancia de esta investigación se basó en la necesidad de dar alternativas para el tratamiento de golpes y torceduras.

1.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Ayala M. et al. (3) en el año 2022 investigó la actividad antiinflamatorios de una forma farmacéutica tópica (crema) a partir del extracto hidroalcohólico de *Mirabilis jalapa L.* El método utilizado fue un ensayo preclínico en el que provocó edema auricular con Xilol 0.6% por vía tópica. Como resultado, la forma farmacéutica (crema) al 5% mostró una actividad antiinflamatoria muy cercana a la del diclofenaco.

Inga G. et al. (4) en un estudio de 2022 determinó en su investigación el efecto antiinflamatorio de un gel elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de hojas de *Senecio rudbeckiifolius* (ramilla) en ratas albinas. El método empleado fue la inducción de inflamación mediante la técnica de edema plantar, lo que permitió el desarrollo del ensayo preclínico. Se obtuvo que de las concentraciones desarrolladas la que tenía un 30% obtuvo la mayor actividad antiinflamatoria, con un efecto muy cercano al fármaco control (diclofenaco 1%). Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Senecio rudbeckiifolius* posee efecto antiinflamatorio en ratas albinas.

Estacio M. et al. (5) en el año 2019 determinó la actividad antiinflamatoria del extracto metanólico del *Plantago major* "Llantén" administrado por vía intraperitoneal. El método usado fue la inducción de inflamación por carragenina al 1%, técnica estandarizada de Edwards (CYTED), formando de bolsas de aire en el dorso (lomo) de las ratas tras la cual se administró el extracto metanólico del *Plantago major* "Llantén" administrado por vía intraperitoneal y el medicamento con el que se confrontara el estudio. Los resultados obtenidos fueron que a una concentración de 400 mg/kg y 800 mg/mg se evidencio una notable actividad antiinflamatoria. Como conclusión se comprobó que la marcha fitoquímica arrojó presencia de alcaloides y taninos los cuales podrían confirmar la actividad farmacológica del extracto metanólico, además, que este extracto administrado intraperitonealmente a una dosis de 400 y 800 mg/kg presenta una actividad antiinflamatoria ligeramente menor al diclofenaco.

Matiz G. et al. (6) investigó en 2018 la actividad antiinflamatoria de flores, hojas y frutos verdes de la especie *Caesalpinia pulcherrima L.* (Swartz). El método usado fue la inducción del edema auricular por TPA y edema plantar inducido por carragenina. Como resultado se detectó actividad antinflamatoria con el modelo del edema auricular, sin embargo, esta no se pudo evidenciar cuando se empleó el modelo del edema plantar durante los ensayos preclínicos. Se concluyó la efectividad del uso etnobotánico de esta planta y el potencial de uso de esta planta en la elaboración de fitoterapéuticos efectivos.

Camacho M. (7) en el año 2017 determinó el efecto analgésico y antiinflamatorio de extracto etanólicos de *Dalea isidori Barneby* "Yerbechil". Como método para el ensayo preclínico se empleó el edema plantar inducido por cartagenina. Como resultado obtuvo que el extracto

etanólico posee actividad antiinflamatoria (250mg/kg) y analgésica (125 mg/kg). Como conclusión se demostró que la dosis de 125 mg/Kg y 250 mg/Kg del extracto etanólico de *Dalea isidori Barneby* presentó mayor efecto analgésico, además, esta última también obtuvo el mayor efecto antiinflamatorio.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema General

- ¿Tendrá actividad antiinflamatoria el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo)?

1.2.2 Problemas Específicos

- ¿El extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) contiene metabolitos secundarios que generen actividad antiinflamatoria significativa?
- ¿Presenta el extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) actividad antiinflamatoria significativa cuando se evalúa utilizando la técnica de inflamación auricular con TPA?
- ¿Presentará el gel elaborado a base del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) una actividad antiinflamatoria significativa en comparación con un tratamiento de control en el modelo de estudio?

1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la historia de la evolución humana, es el primer fémur recuperado, luego de una fractura, lo que la antropología humana antepone como un antes y un después en el proceso evolutivo relacionado al conocimiento de productos terapéuticos, y es que es la habilidad de trasladarse, lo que le permitió al hombre antiguo la ventaja de poder hacer uso de sus dotes como cazador, y ante un trauma grave, el solo hecho de no ser abandonado, supone una nueva era del conocimiento social y terapéutico. (8)

Son muchas razones por lo que las personas consumen fármacos para apaciguar pequeñas dolencias, pero se sabe poco sobre las interacciones y los posibles efectos colaterales que podría alterar el equilibrio de la salud.

En el ámbito de la Medicina Tradicional o complementaria, se cuenta con una amplia variedad de plantas que poseen propiedades curativas y que han sido empleadas desde la antigüedad por comunidades que, debido a diversas razones, no tienen acceso a medicamentos sintéticos. Estas poblaciones han logrado tratar sus dolencias mediante prácticas ancestrales que han perdurado hasta la actualidad. Además, se reconoce que, a diferencia de formas farmacéuticas como tabletas o cápsulas, estos productos de origen vegetal generalmente no interactúan con otros medicamentos prescritos al paciente, salvo en casos específicos con ciertas especies.

Es así como el presente trabajo de investigación se fundamenta en la elaboración de un gel a partir de un extracto alcohólico de especies vegetales para el tratamiento de la inflamación que con ayuda de la tecnología se pueden emplear sus propiedades de una forma más estable segura y eficaz.

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General:

- Evaluar la actividad antiinflamatoria del gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

1.4.2. Objetivos Específicos:

- Realizar la marcha fitoquímica del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).
- Determinar la actividad antiinflamatoria de un gel elaborado a base del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

1.5. MARCO TEORICO

1.5.1 MASTUERZO (*Lepidium sativum*).

REINO	: PLANTAE
DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
ORDEN	: BRASSICALES
FAMILIA	: BRASSICACEAE
GENERO	: LEPIDIUM
ESPECIE	: LEPIDIUM SATIVUM



Fig. N° 1. Planta *Lepidium sativum* (mastuerzo) (Ecosostenible. *Lepidium sativum*: Sistemática, Etimología, Hábitat, Cultivo. [Internet]. Un mundo ecosostenible. 2022. Disponible en: <https://antropocene.it/es/2022/12/04/lepidium-sativum-3/>)

DESCRIPCION.

Es una planta anual de 30-60 cm de altura, erecta, ramificada, glabra y raramente peluda. Hojas inferiores pinnadas o pinnadas, de 4-10 cm de largo, 2,5-3,5 cm de ancho, sésiles. Las hojas superiores son lineales y sésiles. La inflorescencia es un racimo fuertemente ramificado con 20 a 30 flores ramificadas. Flores pequeñas, de 3 mm de diámetro, blancas o rosadas. Tallo del fruto de 2-3(-5) mm de largo. Los sépalos miden 1,5 mm de largo y 1 mm de ancho, son oblongos y obtusos. Los pétalos miden 3 mm de largo y 1 mm de ancho y luego se estrechan hasta una punta redondeada. El fruto es una vaina de 4,5 a 6 mm de largo y de 3,5 a 5 mm de ancho, de forma ampliamente ovalada a subsférica, glabra, de alas estrechas, con una punta dentada y un estilo corto. Las semillas miden 3 mm de largo, 1 mm de ancho y son de color marrón. (9)

COMPOSICIÓN QUÍMICA.

El mastuerzo contiene alcaloides, saponinas, glucósidos de antraceno, carbohidratos, proteínas, aminoácidos, flavonoides y esteroides como principales componentes fitoquímicos. Los extractos de semillas se han estudiado para posibles usos terapéuticos, como efectos antihipertensivos, antibacterianos, broncodilatadores e hipoglucemiantes, mientras que el mucílago de la cubierta de la semilla se ha estudiado para su uso potencial como excipiente en diversos productos farmacéuticos. (10)

Las semillas de mastuerzo son una buena fuente de hierro (1,3 mg/100 g) pero tienen una baja biodisponibilidad (5,4% de hierro absorbido). También contiene alcaloides (0,19%), glucotropolin, sinapina (un éster del ácido sinapínico), ácido sinapínico, mucílago (5%) y ácido úrico (108 mg/kg). El aceite de semilla tiene una importante actividad estrogénica (similar a las hormonas femeninas). (10)

El mucílago de las semillas se utiliza para irritar la mucosa intestinal en pacientes con diarrea y disentería. Está compuesto por una mezcla de celulosa (18,3%) y oligosacáridos que contienen ácidos urónicos. La hidrólisis ácida produce L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, ácido D-galacturónico y glucosa. También contiene ácido pantoténico, rutina y piridoxina. El extracto etanólico de la planta tiene efectos antivirales contra el virus de la peste bovina. (10)

APLICACIONES TRADICIONALES.

El berro de jardín se utiliza a menudo para las enfermedades bronquiales, especialmente el asma (hipersensibilidad bronquial), la bronquitis y otras enfermedades que provocan tos. También se utiliza para hemorroides sangrantes.

Las semillas se utilizaban como estimulante durante la lactancia y la menstruación, para enfermedades de la piel, como diurético, en ataques febriles de diversas causas, disentería amebiana y asma.

Las hojas también se utilizan como diurético y como estimulante para combatir el escorbuto. La raíz se utiliza en la sífilis secundaria y para aliviar el tenesmo rectal.

La medicina tradicional india (Ayurveda) recomienda el uso de semillas secas en polvo en el tratamiento de la gota. Las recomendaciones para su uso en enfermedades inflamatorias del intestino se encuentran en los textos antiguos de la medicina tradicional iraní.

Tradicionalmente, las semillas de berro también se utilizan para favorecer la curación de fracturas óseas. En la Península Arábiga, los berros de jardín se utilizan a menudo para este fin. Otras propiedades que se atribuyen a las semillas son estimular el apetito y actuar como agente rubefaciente.

En Etiopía, el mastuerzo es una de las plantas más utilizadas para tratar las enfermedades del ganado.

En la India, esta planta se utiliza para aliviar los síntomas de la osteoartritis, especialmente en la provincia de Gurayat, en la frontera con Pakistán.

El mastuerzo es una planta que se cultiva comúnmente en el sureste de Marruecos con el fin de tratar la diabetes. (9)

1.5.2 INFLAMACIÓN.

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo al daño causado a las células y tejidos vascularizados por bacterias patógenas y otros agresores de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque la inflamación es dolorosa, suele ser una respuesta reparadora. Este proceso requiere un gran gasto de energía metabólica. En algunos casos, se convierte en una situación crónica, que suele derivar en enfermedades degenerativas como artritis, arteriosclerosis e incluso cáncer. Suele acompañarse de una reacción sistémica (respuesta de fase aguda) caracterizada por un cuadro clínico transitorio como malestar general, fiebre y cambios en el perfil de las proteínas circulantes y de los glóbulos blancos; también puede causar una reacción sistémica (síndrome inflamatorio agudo sistémico) que en una serie de reacciones espirales incontrolables (inflamación maligna) conducen a la disfunción de diversos órganos y sistemas (fallo multiorgánico), resultando en la muerte del individuo (Figura N° 2). (11)

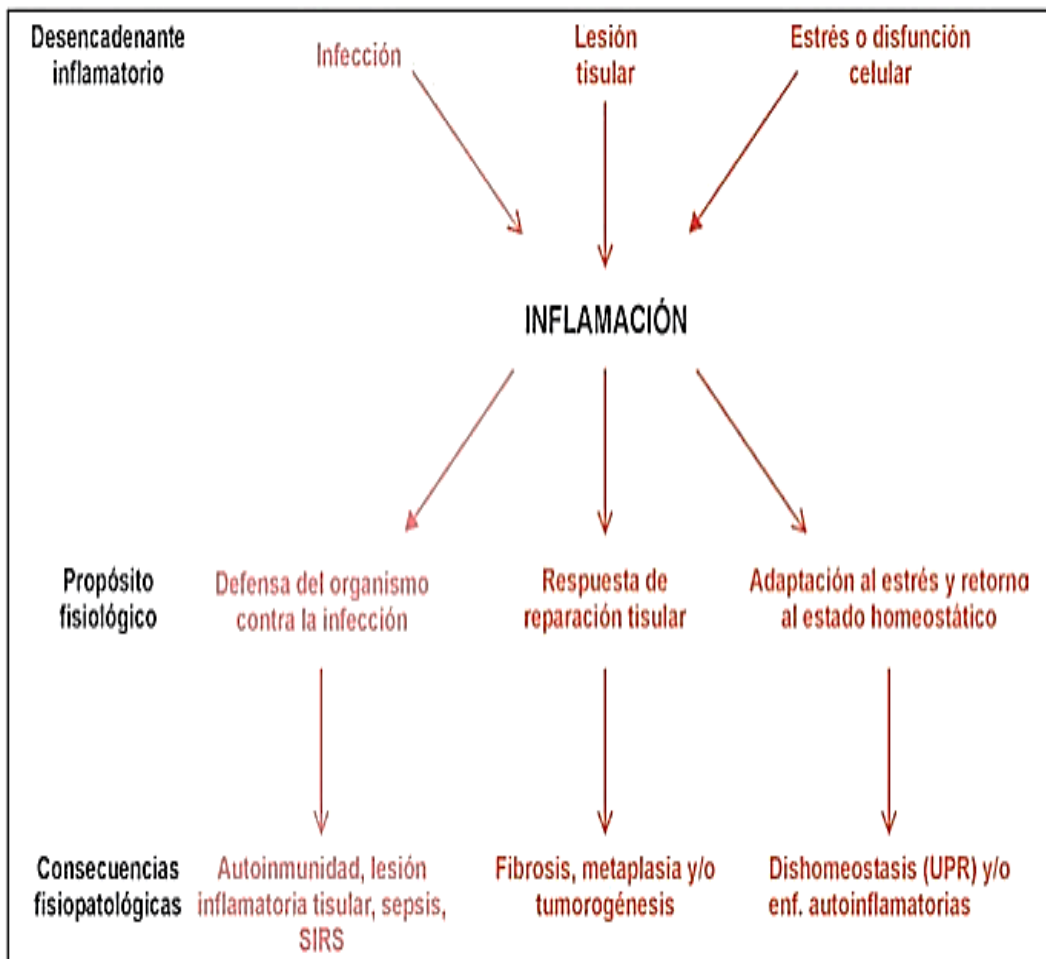


Fig. N° 2. La inflamación; aunque en principio representa un proceso universal e inespecífico encaminado a restaurar la homeostasis disturbada, puede elegir, según la causa desencadenante, diferentes escenarios de actuación para conseguir resultados determinados. (Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, ISSN 1137-2141, Vol. 102, N° 1, 2008)

1.5.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN.

Las defensas naturales del cuerpo se basan en tres componentes: barreras externas, sistemas no específicos y respuestas específicas de antígenos. La inflamación es la primera respuesta inespecífica de un organismo a estímulos mecánicos, químicos o microbianos. La reacción inflamatoria es rápida y generalizada, además, se controla frecuente y rápidamente mediante mecanismos tanto humorales como celulares, como el sistema del complemento, coagulación, cininas y cascadas fibrinolíticas; también se activan por la coactivación de fagocitos y células endoteliales. Este fenómeno resulta beneficioso siempre que el proceso inflamatorio conserve un balance adecuado entre las células implicadas y los mediadores químicos. Como consecuencia, se observan la dilatación de los vasos sanguíneos, un incremento en la permeabilidad vascular, la activación y adhesión celular, así como un estado de hipercoagulabilidad.

En las zonas afectadas por la inflamación, la dilatación de los vasos sanguíneos y el incremento de la permeabilidad microvascular favorecen una mayor disponibilidad de oxígeno y nutrientes en el área, lo que genera calor, inflamación localizada y acumulación de líquido en los tejidos (edema). Los cambios hemodinámicos provocan los cuatro síntomas típicos de la inflamación local: enrojecimiento (eritema), tumor (edema), fiebre y dolor. (12)

Las reacciones ante una agresión incluyen alteraciones cardiovasculares, como el incremento de la frecuencia cardíaca, la contractilidad y el gasto cardíaco, así como modificaciones neuroendocrinas, que abarcan la liberación de catecolaminas, cortisol, hormona antidiurética, hormona del crecimiento, glucagón e insulina. El tercer espacio conduce a la contaminación de fluidos corporales y a un mayor consumo de oxígeno. El suministro de oxígeno (DO_2), se ajusta para mantener los niveles arteriovenosos de oxígeno de manera normal, pero cuando el cuerpo experimenta una deficiencia de oxígeno cambia rápidamente a la vía anaeróbica. Ligado con una mayor demanda metabólica, se observa una disminución de la resistencia vascular sistémica. Si no se produce un segundo ataque, estos cambios fisiológicos locales y sistémicos persisten durante 3 a 5 días y desaparecen después de 7 a 10 días. El resultado clínico es una disminución del tercer espacio, un aumento de la diuresis y del pulso y una normalización de la temperatura corporal. (12)

En algunos casos, la intensidad o repetición de la agresión puede provocar una pérdida de control local o la activación de mecanismos de respuesta normalmente latentes que abruma los sistemas de control y desencadenan una respuesta sistémica exagerada llamada SIRS (Respuesta Inflamatoria Sistémica). Puede ser causada por infecciones (virus, bacterias, protozoos, hongos) o por causas no infecciosas (traumatismos, reacciones autoinmunes, cirrosis, pancreatitis).

Bone en 1996 describió tres etapas en el desarrollo del SIRS (Figura 3). En la fase I, las citocinas se liberan localmente en respuesta al ataque, lo que desencadena una respuesta inflamatoria, repara el tejido y recluta células del sistema reticuloendotelial. Durante la fase II se liberan pequeñas cantidades de citoquinas en el torrente sanguíneo para estimular la respuesta local. Se reclutan macrófagos y plaquetas y se producen factores de crecimiento. La liberación de antagonistas endógenos y la reducción de mediadores proinflamatorios son las características definitorias de la respuesta de fase aguda. Estos mediadores gestionan la respuesta inflamatoria temprana. El resultado de esta situación es la restauración de la homeostasis, la eliminación de la infección y la finalización de la curación. Si no se restablece la homeostasis, se produce la fase III o una respuesta sistémica masiva. Las citoquinas desencadenan una cascada humoral significativa de mediadores inflamatorios, que persisten en el mantenimiento de la activación del sistema reticuloendotelial, lo que resulta en un deterioro de la función microcirculatoria y daño a órganos distantes. (12)

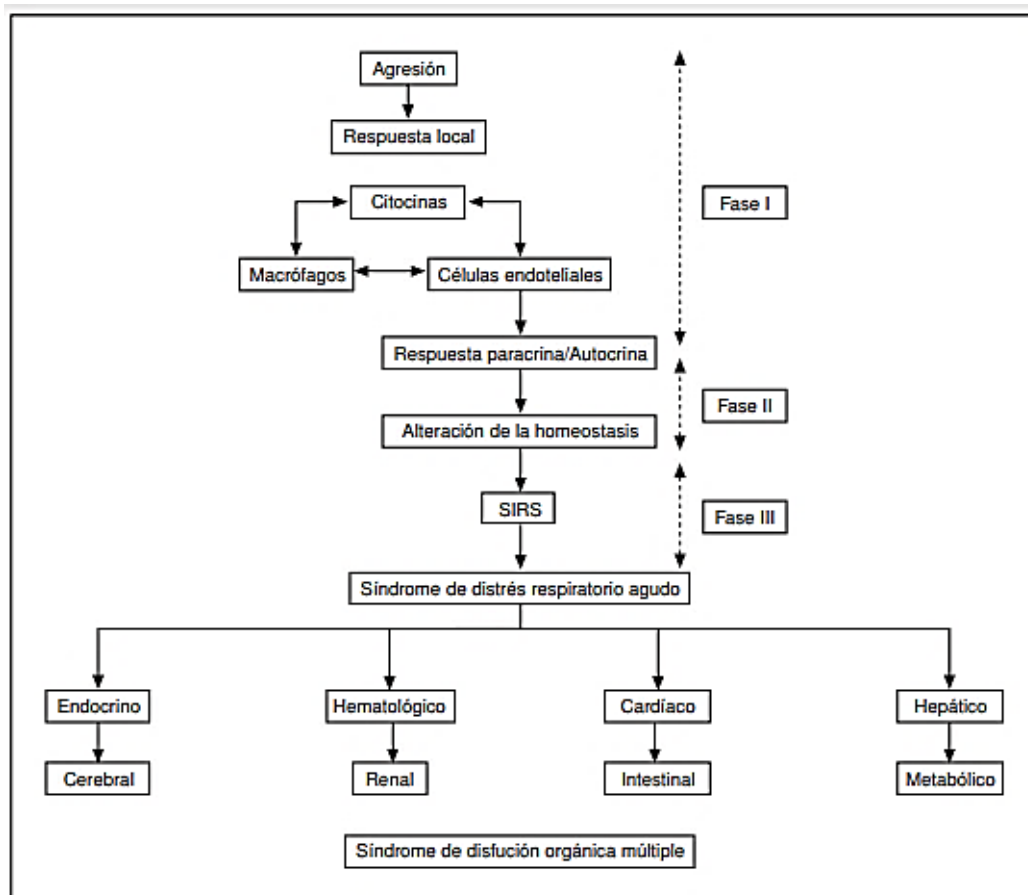


Fig.Nº3. Fases evolutivas de los procesos inflamatorios. (García de lorenzo y mateos A, López martínez J, Ssánchez castilla M. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. Med Intensiva [Internet]. 2000;24(8):353–60. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5691\(00\)79622-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5691(00)79622-7))

INFLAMACIÓN AGUDA.

MECANISMOS DE INICIO Y TERMINACIÓN

La inflamación aguda afecta el tejido conectivo, los vasos sanguíneos y los glóbulos blancos del sistema mieloide, que no participan en la inmunidad específica. Los tejidos vivos responden positivamente a los agentes irritantes produciendo una respuesta local que es la inflamación, como explicó Metchnikov. Esta reacción es causada principalmente por la actividad fagocítica de las células mesodérmicas. Sin embargo, en esta reacción pueden estar implicados no sólo cambios en la vasculatura, sino también efectos químicos del plasma y de los fluidos tisulares en la licuefacción y disolución de sustancias irritantes.

Publicada en 1892, esta definición literalmente todavía se aplica hoy. Metchnikov evaluó este proceso desde un punto de vista biológico comparativo y pudo identificar los componentes principales de la inflamación y sus propiedades positivas. Sus observaciones le llevaron a concluir que, desde una perspectiva evolutiva y patogénica, los fenómenos vasculares son secundarios a las respuestas fagocíticas. (12) Slejelid y Plytycz describen la inflamación como prototipo.

El primer indicador de cambios en los tejidos del huésped es la aparición de un grupo novedoso de moléculas, conocidas como moléculas de adhesión, localizadas en la membrana plasmática de los pequeños vasos endoteliales. Estas moléculas, entre las que se incluyen las moléculas de adhesión intercelular (ICAM) y las moléculas de adhesión endotelial para leucocitos (ELAM), son estimuladas por citocinas con propiedades proinflamatorias y funcionan como receptores que interactúan con sus correspondientes ligandos presentes en los leucocitos en circulación, particularmente los granulocitos.

La generación de estas moléculas es impulsada inicialmente por agentes como la trombina, la interleucina (IL)-1 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), los cuales activan primero la selectina P (también llamada GMP-140 o CD62) y posteriormente la selectina E (ELAM-1). Es importante destacar que la ICAM-1 se activa únicamente mediante IL-1, pero no por TNF. En la membrana de las células endoteliales, estas moléculas se expresan para facilitar el desplazamiento de los granulocitos, permitiéndoles adherirse y moverse a lo largo de la superficie endotelial. El enlace entre el endotelio y los leucocitos se ve reforzado por la interacción de la integrina heterodimérica CD11/CD18 (inducida por IL-8) en una superficie y ICAM-1 en la otra superficie.

Los tejidos inflamados producen una variedad de quimioatrayentes. Estos incluyen el factor C5_a, leucotrieno B₄, factor de agregación plaquetaria (PAF) y péptidos bacterianos formilados.

Los granulocitos inmediatamente comienzan a fagocitar bacterias y restos de tejido, y los restos necróticos se combinan con las bacterias y los restos de tejido para formar una

sustancia llamada pus. La dilatación de los vasos sanguíneos pequeños da como resultado una mayor permeabilidad. Estos cambios vasculares ocurren como consecuencia de la acción de los leucocitos con agotamiento de los granulocitos circulantes. Los cambios estructurales y la dilatación de los pequeños vasos sanguíneos permiten la liberación de proteínas plasmáticas e inducen, entre otras cosas, la activación del complemento y la coagulación, la producción secundaria de cininas y la activación de las plaquetas.

En caso de una reacción positiva, los macrófagos derivados de monocitos consumen y desintegran las bacterias muertas, así como los glóbulos blancos o fragmentos de tejido. Los factores de crecimiento locales reemplazan las células dañadas dentro del tejido conectivo y la matriz extracelular, restaurando la composición y morfología originales de todo el tejido (Figura 2).

Se han investigado los mecanismos que desencadenan este proceso y las señales iniciales que hacen que las células endoteliales produzcan moléculas de adhesión y entreguen fagocitos al compartimento extravascular.

Hay dos posibilidades:

1. Efecto directo de patógenos inflamatorios sobre los vasos sanguíneos.
2. Activación de células normales del tejido conectivo mediante factores estimulantes y producción de estimulantes (mediadores).

El análisis inicial no evidenció una influencia directa de las bacterias ni de sus productos en los capilares para la generación de moléculas de adhesión. Aunque los compuestos microbianos poseen la capacidad de atraer a los granulocitos de manera química, este mecanismo únicamente se activa una vez que los leucocitos logran adherirse al endotelio en el área afectada por la inflamación. Esto nos lleva a considerar otra posibilidad: las moléculas de adhesión presentes en el endotelio, como ELAM e ICAM, son promovidas por la acción de citoquinas específicas como IL-1 y TNF. En algunas células normales del tejido conectivo se ha observado la liberación de grandes cantidades de citocinas a la respuesta a los fármacos.

Estas incluyen células del tipo endoteliales del tejido conectivo, macrófagos fibroblastos y mastocitos. El endotelio tiene la capacidad de generar IL-1 e IL-6 *in vitro*, pero la inflamación causada por una infección o lesión del tejido extravascular dificulta que surja la primera señal de estas células. Los fibroblastos no producen cantidades significativas de IL-1 y TNF cuando son estimulados por mastocitos y macrófagos.

El primer tipo contiene TNF y otras citoquinas en sus gránulos y se libera después de una estimulación inmune no específica. No se ha demostrado la activación de los mastocitos por microorganismos o sus productores, pero el estrés mecánico u otros estímulos inespecíficos pueden inducir la desgranulación. Aunque hay cantidades menores de

mastocitos en ciertos tejidos, tienen un impacto significativo en las primeras etapas de la inflamación. (12)

IL-1 y TNF α son producidos predominantemente por macrófagos, que se encuentran distribuidos por todo el cuerpo. La activación de los macrófagos del tejido conectivo por agentes infecciosos da como resultado la producción y liberación de citoquinas, que desencadenan cambios endoteliales que conducen a la marginación, captura y diapédesis de glóbulos blancos. Las toxinas bacterianas desempeñan un papel importante porque actúan como superantígenos, provocando una activación masiva, inespecífica y descontrolada del sistema inmunológico. Los superantígenos son estructuras microbianas capaces de activar un gran número de linfocitos T, independientemente de su tipo (CD4 y CD8) o de su especificidad antigénica. Entre las sustancias que actúan como superantígenos en las primeras etapas de activación dan lugar a la inflamación dado que los linfocitos Th1 se activan tanto fisiológicamente como por antígenos séricos y desencadenan mediadores inmunitarios inflamatorios parecidos a los del shock endotóxico séptico. (12)

Aunque actualmente se dispone de mucha información sobre las primeras etapas del proceso inflamatorio, no existe una descripción fiable de las últimas etapas del proceso inflamatorio agudo. La mayoría de los estudios se centran en el mecanismo patogénico del inicio y extensión de la respuesta inflamatoria, pero no abordan sus limitaciones ni soluciones.

Muchas citocinas y ARN implicados en la inflamación aguda tienen vidas medias cortas y el proceso puede detenerse simplemente agotando el mecanismo desencadenante. Además, existen antagonistas naturales de las citocinas de alerta, como la IL-1 Ra (antagonista del receptor) y el receptor de TNF soluble (TNF Rs I y II). Estos receptores solubles aumentan en situaciones agresivas y se unen a citocinas específicas, impidiéndoles unirse a receptores celulares.

Aunque las mismas células pueden sintetizar ambas citoquinas, la producción de IL-1 e IL-2 Ra está regulada de manera diferencial. Otras citocinas alteran el equilibrio entre IL-1 e IL-1Ra. La IL-4, el factor de crecimiento β y la IL-10 aumentan la síntesis de IL-1Ra y disminuyen la síntesis de IL-1. La IL-4 induce una regulación negativa de TNF e IL1 y una regulación positiva de IL-1 Ra y VCAM (molécula de adhesión endotelial de monocitos); Además, los monocitos sanguíneos median en la transición a la etapa final de la inflamación, en la que es predominante. Por otro lado, la IL-4 promueve la apoptosis de los monocitos y reduce la cantidad de monocitos en los tejidos inflamados. La IL-10 producida por linfocitos Th2, monocitos, macrófagos y células B inhibe la síntesis de IL-1, TNF, IL-6, IL-8 y el factor estimulante de colonias (CSF). Las interleucinas IL-4 e IL-10 desempeñan un papel clave en la resolución de la respuesta inflamatoria aguda. La

cantidad de linfocitos Th2, que representan la principal fuente de estas citocinas, incrementa bajo la influencia de los glucocorticoides, lo que genera un desplazamiento en el balance Th1/Th2 a favor de Th2. Los glucocorticoides, junto con ciertas citocinas como IL-4, IL-10 e IL-1 Ra, son capaces de moderar eficazmente la respuesta inflamatoria aguda. Su liberación ocurre cuando el eje hipotálamo-pituitario-adrenal es activado por citocinas de alarma como IL-1, IL-6 y TNF, lo que establece un sistema de retroalimentación negativa que suprime la expresión de genes relacionados con las citocinas. Aunque este es el mecanismo principal para frenar la inflamación, también participan otros centros endocrinos y nerviosos, así como los receptores opioides endógenos, en el mantenimiento de la homeostasis durante este proceso.

MEDIADORES DE LAS RESPUESTAS INFLAMATORIAS

Después de un ataque, las reacciones de fase inmediata o aguda destinadas a aislar y restaurar la homeostasis constituyen un fenómeno inflamatorio. Estas respuestas comienzan en el lugar del ataque, pero desencadenan respuestas sistémicas a través de mediadores. Aunque los mediadores forman un marco muy complejo, por razones didácticas se suele dividir en mediadores generales y mediadores específicos.

Mediadores genéricos.

Citocinas.

Los macrófagos y monocitos se activan por la agregación plaquetaria y sus mediadores quimiotácticos, o directamente por los productos bacterianos (endotoxinas) o los subproductos de la agresión (opsoninas). Las citocinas son los principales mediadores de esta respuesta, particularmente el TNF α y la IL-1 β , que se consideran determinantes fisiopatológicos de la sepsis y el shock séptico.

Los macrófagos activados producen una amplia gama de mediadores y las citocinas tempranas IL-1 y TNF, que son importantes para iniciar la respuesta. Estas citoquinas de alarma tienen efectos locales y globales. Estos actúan sobre las células estromales, los fibroblastos y el endotelio, induciendo la producción de una segunda ola de citocinas, IL-1, IL-6, IL-8 y proteínas quimioatrayentes de macrófagos o MCP. IL-8 y MCP son fuertemente quimiotácticos para granulocitos y monocitos, que sirven como fuente de citoquinas y elementos quimiotácticos. En casos de sepsis experimental, se detectaron aumentos secuenciales en las concentraciones plasmáticas de TNF- α , IL- β , IL-6 e IL-8. La agresión en sí induce una fuerte respuesta celular mediante la liberación de nuevos mediadores: otras citocinas (IL-6, IL-8), eicosanoides y el factor activador de plaquetas (PAF) junto con TNF α e IL-1 β . Adicionalmente, se liberan citocinas con efectos antiinflamatorios como IL-4 e IL-10, mientras que la síntesis de TNF α e IL-1 β por los

monocitos disminuye en respuesta a la agresión. En las células endoteliales, estas citocinas favorecen la expresión de moléculas de adhesión, como integrinas, selectinas y adherinas, lo que facilita la migración de monocitos y neutrófilos hacia los tejidos. Por otro lado, la producción de radicales libres y óxido nítrico (NO) por parte de las células endoteliales, junto con metabolitos del ácido araquidónico como eicosanoides (tromboxano, prostaglandinas y leucotrienos), genera vasodilatación, extravasación y una alteración de la reactividad vascular típica del proceso inflamatorio. Además, las interleucinas IL-1 e IL-6 influyen en el eje pituitario, promoviendo un aumento en la secreción de ACTH y cortisol.

En conclusión, el inicio y la progresión de la respuesta de fase aguda se deben a una respuesta orquestada por mediadores inflamatorios. (12)

El hígado es un órgano diana de mediadores inflamatorios y sintetiza proteínas de respuesta de fase aguda. Están involucradas cuatro categorías de mediadores: citoquinas como IL-6, tipo IL-1, TNF, glucocorticoides y factores de crecimiento, que induce la expresión del gen de la proteína de fase aguda en los hepatocitos. Las interleucinas IL-6 e IL-1 destacan como las más relevantes, aunque los glucocorticoides y los factores de crecimiento pueden actuar de manera sinérgica o regular sus efectos. Se considera que estas citocinas proinflamatorias están asociadas con el hipermetabolismo característico del estado de estrés. Tanto la nutrición como la desnutrición influyen en la síntesis de citocinas, pero intervenciones como el soporte nutricional, la neutralización de mediadores o el bloqueo de receptores de citocinas proinflamatorias, implementadas en casos de sepsis grave y shock séptico, han arrojado resultados inconsistentes. Lo mismo se ha observado en los intentos de inhibir la producción de óxido nítrico (NO).

Eicosanoides

La transformación parcial del ácido araquidónico mediante oxidación produce eicosanoides, que son ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de 20 carbonos, incluyendo prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT), lipoxina (Lx), ácido hidroxieicosatetránico (HETE) y epóxidos. Este grupo incluye otros productos de oxidación de ácidos grasos como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA).

Los mediadores lipídicos que generan ciclooxigenasas, leucotrienos y PAF son fundamentales para la fisiopatología de la sepsis. La producción de eicosanoides se limita a la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana mediante la fosfolipasa A, la fosfolipasa A₂ o la fosfolipasa C.

El ácido araquidónico se metaboliza de dos maneras: a) ciclooxigenasa para la síntesis de PG₁₂ (prostaciclina), PGD₂, PGE₂, PGF₂ y TxA₂, y b) leucotrienos (LTA₄, LTB₄, 5 - HETE, LTC₄, LTE₄ y Lipoxina). (12)

El ácido linoleico, un precursor del ácido araquidónico, se necesita en pequeñas cantidades para el funcionamiento normal del sistema inmunológico, pero en dosis altas tiene efectos inmunosupresores. Este efecto es mediado por la síntesis de prostaglandinas de ácido mono y dienoico (con uno o dos dobles enlaces). La administración de ácidos grasos $\omega 3$ (ácido linolénico, EPA, DHA) induce la producción de prostaglandinas de ácido trienoico con menos efectos biológicos (TxA₃ produce menos agregación plaquetaria que TxA₂, o PGE₃, PGE₃ produce menos inmunosupresión que PGE₂).

Una dieta rica en ácidos grasos de la serie $\omega 6$ actúa de forma inmunosupresora al producir grandes cantidades de PGE₂. Estudios in vitro en animales sépticos y voluntarios sanos 25 han demostrado los efectos antiinflamatorios de los ácidos grasos $\omega 3$ (EPA y DHA), pero su efecto sobre la sepsis en pacientes críticos no está claro.

Los lípidos de la dieta pueden alterar las funciones metabólicas y celulares. Los lípidos alteran la composición y función de las membranas celulares y alteran la producción de citoquinas y prostaglandinas y las respuestas del huésped a la infección.

Moléculas de adhesión

Hay cuatro familias principales de moléculas de adhesión. Las selectinas atraen neutrófilos y plaquetas al endotelio. Las integrinas provocan el aplanamiento de los neutrófilos y promueven la exudación de neutrófilos a través de la pared endotelial; Son importantes para la transcripción y otras funciones celulares.

Las caderinas se unen a las células. Finalmente, las inmunoglobulinas funcionan uniéndose a las células.

Las moléculas de adhesión pueden causar daños en algunos casos. La agregación excesiva de células polimorfonucleares causa isquemia, mientras que la adhesión excesiva causa daño endotelial, edema, hemorragia o trombosis tanto local como distal a la lesión. (12)

Mediadores específicos

Las respuestas inmunes específicas las llevan a cabo los linfocitos B y T, especialmente después de la estimulación antigénica por agentes infecciosos. Los linfocitos B maduran y se diferencian de las células plasmáticas que producen inmunoglobulinas o anticuerpos. La reacción es muy específica.

Los linfocitos T responden a antígenos presentados por células del linaje de monocitos/macrófagos (y otras células presentadoras de antígenos) en el contexto de antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (antígenos HLA). La especificidad de la respuesta la inician los receptores de antígenos (TcR), moléculas sintetizadas por linfocitos auxiliares CD4-colaboradores, linfocinas o mediadores de

linfocitos, que promueven la activación y diferenciación de otros linfocitos, en particular de las células citotóxicas Masu. (CD8+), células natural killer (NK) y linfocitos B.

Las proteínas de bajo peso molecular, como las linfocinas, poseen una vida media sumamente breve. Su producción es rápida y cumple una función clave en la regulación de la magnitud y la duración de la respuesta inmune.

Las citocinas, IL-2 y el IFN γ , son fundamentales para las respuestas frente a infecciones contra patógenos intracelulares (virus, hongos y parásitos) y también son esenciales para las respuestas antitumorales. Otras linfocinas estimulan la maduración de las células progenitoras hematopoyéticas (IL-3, G-CSF, M-CSF, GM-CSF) y activan la maduración de los linfocitos B (IL-4, IL-5). En procesos graves provocados por ataques no infecciosos (grandes quemaduras, politraumatismos, etc) puede producirse la síntesis de mediadores de reacciones específicas. En procesos graves provocados por ataques no infecciosos (grandes quemaduras, politraumatismos, etc.). En esos casos, los mediadores de la respuesta inflamatoria pueden estimular las células B de forma inespecífica (como en el caso de la hipergammaglobulinemia inducida por estimulación policlonal) o aumentar la síntesis de IL-2 (en el caso de estrés o actividad física aguda). En las lesiones por quemaduras grandes, un aumento de las células T activadas y la síntesis de IL-2 puede provocar apoptosis o muerte celular programada, lo que podría contribuir al estado de inmunodeficiencia transitoria que se observa en estos casos.

Se han definido y caracterizado más de 17 citocinas diferentes, algunas con funciones idénticas, como las citocinas inflamatorias y las quimiocinas (IL-8).

Se distinguen dos familias de linfocitos T en función de los mediadores sintetizados por los linfocitos T auxiliares activados (CD4).

1. Linfocitos Th1: producen IL-2, IFN γ , que activa respuestas citotóxicas.
2. Linfocitos Th2: Estos estimulan la producción de Igs y producen los mediadores inflamatorios IL-4, IL-5 e IL-10.

Los factores estimulantes de colonias cumplen un papel importante en procesos infecciosos graves al favorecer la recuperación de la neutropenia y proporcionar nuevas células para combatir las infecciones.

Las funciones reguladoras e inhibitoras de las respuestas inmunes dependen del equilibrio entre la síntesis de diferentes citoquinas con diferentes efectos. La IL-10, tienen efectos supresores sobre los linfocitos Th1 y respuestas de monocitos/macrófagos. (12)

REPERCUSIÓN SISTÉMICA Y CAMBIOS METABOLICOS.

Las respuestas de los tejidos dependen de la regulación endocrina, paracrina, autocrina y oxidativa. Muchos mediadores actúan en las fases fluida y celular. Los derivados de

leucocitos, macrófagos, linfocitos y células endoteliales conducen con mayor frecuencia al desarrollo de disfunción multisistémica (MODS). TNF- α e IL-1 pueden reproducir experimentalmente casi todo el síndrome inflamatorio. Las dosis altas de estas linfocinas son letales. Junto con IL-6, IL-8 y el interferón gamma forman el grupo de mediadores proinflamatorios.

La red de citoquinas es distinta del sistema hormonal clásico. Las citoquinas tienen efectos paracrinos y autocrinos, exhiben polimorfismos estructurales importantes y exhiben una redundancia funcional significativa. Están asociados con el sistema endocrino e inducen la liberación de corticosteroides, especialmente cortisol, en la fase posterior al ataque e interactúan con los glucocorticoides para modular la respuesta al estrés. Esta relación no implica dependencia, ya que los sueros anti-TNF y anti-IL-1 no alteran la respuesta de corticosterona tras el desarrollo de un absceso fijo. Después de una agresión, aumentan los niveles de ACTH, noradrenalina, adrenalina, corticosterona, cortisol, alfa-MSH y hormonas sexuales.

Aunque las hormonas y las citocinas responden a los mismos estímulos, no existe una relación causal. La rapidez de reacciones hormonales difiere para cada tipo de hormona. Las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) reaccionan en segundos, la insulina y glucagón en minutos, la hormona del crecimiento y el cortisol en 6 a 12 horas, pero las hormonas tiroideas y sexuales no reaccionan necesitan varias horas para actuar.

Las citocinas proinflamatorias activan la vía del complemento estimulando los reactivos de fase aguda del complemento, los factores B, C₃ y C₄, aumentando β_2 -integrina en el complejo de leucocitos CD_{11b}/CD₁₈ y los neutrófilos. TNF- α e IL-2 activan ICAM-1 y E-selectina a nivel endotelial vascular. Esto promueve la adhesión de los neutrófilos al endotelio inflamado, promoviendo el estrés oxidativo y el daño endotelial.

El aumento de la anafilatoxina C_{3a} y la aparición de complejos trombina-antitrombina III también activa los sistemas de coagulación y fibrinolítico. Aumenta niveles de activador del plasminógeno tisular e inhibidor del activador del plasminógeno I, así como los complejos de fosfolípido A₂ y PMN α -1 antitripsina elastasa.

Estos cambios endocrinos, paracrinos y autocrinos se asocian con hipermetabolismo, hipercatabolismo, aumento de la proteólisis, aumento de la síntesis de proteínas reactivas de fase aguda, disminución de la síntesis hepática de proteínas viscerales, aumento de la neogluconeogénesis y glucosa. Provoca intolerancia a la captación y cambios en el metabolismo de los lípidos asociados con hipocolesterolemia e hipertrigliceridemia. (12)

1.5.4 FITOTERAPIA.

La fitoterapia es la ciencia que estudia los productos herbarios para la prevención, tratamiento y alivio de enfermedades leves o moderadas. También puede utilizarse para

tratar enfermedades crónicas, tanto en monoterapia como coadyuvante. Se ha utilizado desde los inicios de la civilización como resultado de la relación directa entre el ser humano y la naturaleza, distinguiendo entre plantas curativas y plantas que matan, y trasladando esta información de generación en generación. (13)

Ya no hay dudas sobre el uso y la importancia de las plantas, que representan un tesoro de sustancias biológicamente activas. (Baules Castella & Torres, 2008)

La fitoterapia es un nuevo término utilizado por el médico francés Henri Leclerc (1870-1955) a principios de este siglo. Desde entonces, el término fitoterapia se ha utilizado para referirse al uso de plantas medicinales con fines terapéuticos, contribuyendo posteriormente a distinguirla de los métodos curativos actuales; medicina convencional (Avello & Cisternas, 2010). (13)

Aunque reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el problema de armonizar la fitoterapia con la llamada medicina convencional no ha sido completamente resuelto. La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento. Son una fuente de descubrimiento de nuevos fármacos y en algunos casos de coste mucho menor que la síntesis de nuevos fármacos, lo que las hace útiles no sólo en la prevención de muchas enfermedades sino también a nivel económico. (13)

1.5.5 GEL

Un gel es una forma farmacéutica cuya presentación son dispersiones semisólidas de partículas pequeñas inorgánicas, o una solución de moléculas orgánicas grandes que contiene un agente gelificante que le aporta dureza. Los geles utilizados como tratamientos tópicos para la piel son altamente tolerados y resultan ideales en terapias dérmicas, ya que permiten una liberación rápida del principio activo, ofreciendo la posibilidad de lograr efectos sistémicos de manera eficaz y segura; evitando el metabolismo o transformación de primer paso. Mayormente están constituidos de agua (hasta un 90%); muy refrescantes y ligeros, su pH puede encontrarse entre 4,5 - 8,5 y no contienen aceites grasos. (19)

Hidrogeles

Para su elaboración se emplea excipientes hidrófilos: agua, glicerol, y propilenglicoles, gelificados con sustancias como gomas, almidón, que derivan de la celulosa, polímeros carboxílicos, silicatos de magnesio y aluminio. Los hidrogeles se caracterizan porque constituyen geles en el sentido “clásico” estos se obtienen por esponjamiento limitado de sustancias orgánicas macromoleculares o por combinaciones orgánicas. (19)

Control de Calidad.

Dado el crecimiento y la importancia de las plantas medicinales y los medicamentos derivados de plantas en el arsenal terapéutico, el control de calidad debe realizarse utilizando técnicas modernas y eficientes. Las plantas medicinales, que se utilizan como

materia prima para la producción de fitofármacos, varían en el contenido de ingredientes activos y pueden estar sujetas a deterioro o contaminación, por lo que es importante controlar la calidad de las materias primas vegetales. (Sharapin Nikolai. 2000). (14)

Los problemas identificados durante el control de calidad incluyen:

1. La droga utilizada no está descrita en la farmacopea y puede presentarse una sustitución o una falsificación.
2. Una porción de la planta no coincide con la especificada.
3. La cantidad de sustancias impuras excede el límite permitido.
4. El nivel de cenizas supera el valor permitido.
5. La cantidad de compuestos activos no concuerda con lo indicado.
6. Detección de contaminación por microorganismos (biológica)
7. Los niveles de metales pesados y pesticidas exceden los valores permitidos.

1.6. MARCO CONCEPTUAL

Lepidium sativum: También conocida como lepidio, berro de jardín, mastuerzo o berro hortelano, es una planta de tamaño reducido que se utiliza comúnmente en ensaladas. Es comúnmente encontrada cerca de fuentes, caminos y márgenes de ríos. Es originaria de Egipto y Asia occidental. (9)

Inflamación: La inflamación (del latín *inflammatio*: encender, prender fuego) es una expresión común en diversas enfermedades. Es una reacción inespecífica frente a las agresiones del entorno, provocada por los agentes responsables de la inflamación. Esta respuesta ocurre exclusivamente en tejidos conectivos vascularizados y tiene como objetivo defensivo aislar y destruir el agente perjudicial, así como reparar los tejidos u órganos lesionados. Se considera por tanto un mecanismo de inmunidad innata, estereotipado, en contraste con la reacción inmune adaptativa, específica para cada tipo de agente infeccioso. (15)

AINEs: Los **antiinflamatorios no esteroideos** (abreviados **AINE**) son un grupo químicamente heterogéneo de fármacos diversos, principalmente antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos que reducen los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre, respectivamente. Todos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Los antiinflamatorios naturales, segregados por el propio organismo, son los derivados de los corticoides, sustancias de origen esteroideo de potente acción antiinflamatoria, pero con importantes efectos secundarios.(16)

Fitoterapia: Del griego *phytós* ('planta' o 'vegetal') y *therapeia* ('terapia'), o medicina herbal es una terapia de medicina alternativa, que sostiene la posibilidad de curar o aliviar síntomas o

enfermedades con plantas medicinales. Preparaciones usadas en la fitoterapia con principios activos conocidos y medidos, son efectivas para tratar algunas enfermedades. (17)

Gel: La adición de sustancias coloidales a un solvente espesado da como resultado los geles, que son formas farmacéuticas semisólidas. (19)

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Tipo de investigación: Aplicada, experimental

Nivel de la investigación: Nivel exploratorio

Diseño de la investigación: Diseño experimental

La etapa experimental es la que permite evaluar mediante ensayos químicos y preclínicos la eficacia terapéutica de la sustancia, especie vegetal o muestra objeto del análisis, comprende desde la etapa de recolección de la especie en estudio, elaboración del extracto, acondicionamiento del extracto para su administración y el ensayo preclínico que nos permitió obtener los resultados que posteriormente fueron discutidos frente a investigaciones de distintos autores y presentados para una posterior aplicación.

2.2. HIPOTESIS

2.2.1. Hipótesis general.

- El gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) presenta actividad antiinflamatoria.

2.2.2. Hipótesis Específicas.

- El extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) poseerá metabolitos secundarios que pudiesen generar actividad antiinflamatoria.
- El extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) presenta actividad antiinflamatoria luego de ser evaluada con la técnica de inflamación auricular con TPA.
- El gel elaborado a base del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) presentará una actividad antiinflamatoria significativa.

2.3. VARIABLES

A. Variable Independiente

Gel elaborado a base de extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

B. Variables dependientes

Actividad antiinflamatoria aguda.

2.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Indicadores
Dependiente: actividad antiinflamatoria aguda.	Se reducen las prostaglandinas y tromboxanos	<ul style="list-style-type: none">• Diferencia de peso entre la oreja en estudio y la oreja sin administrar el agente químico.
Independiente: Gel elaborado a base de extracto alcohólico de las flores de <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo).	Material con apariencia de sólido y aspecto gelatinoso que se forma al dejar en reposo una disolución emulsionada.	<ul style="list-style-type: none">• Grupo Agente irritante (aceite de crotón)• Grupo Extracto al <i>Lepidium sativum</i> 5%• Grupo gel 2% elaborado a base del extracto alcohólico de flores de <i>Lepidium sativum</i>.• Grupo Diclofenaco gel al 1%

2.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de los animales de experimentación estuvo conformada por 24 ratones albinos, de la especie *Mus musculus*, cepa BALB/C, con un peso aproximado entre 25 – 30g, los cuales fueron adquiridos en el bioterio del Instituto Nacional de Salud.

La población vegetal estuvo conformada por la especie *Lepidium sativum* (mastuerzo) recolectado en la provincia de Cañete, Nuevo Imperial.

La muestra vegetal estuvo conformada por 8kg de flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

2.6. TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.6.1 PREPARACION Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La recolección de la especie *Lepidium sativum* (mastuerzo) se realizó en la provincia de Cañete, Nuevo Imperial, un lugar dedicado al campo agrícola, en el mes de setiembre de 2023, porque esta especie se puede recolectar en la estación de invierno ya que crece de forma silvestre y se agosta (reduce su población) en los meses calurosos y así se procedió a recoger la especie en bolsa de papel Kraft planta entera pesando 8 kg de flores.

Fueron seleccionadas las plantas que se encontraron en mejor condición, limpiándolas con agua potable para seleccionarla y luego fueron limpiadas con agua destilada y se procedió a secarlas. Luego del proceso de selección las flores se separaron de la planta mediante el empleo de una tijera.

Las flores del nastuerzo se secaron bajo la sombra colocadas encima de un papel Kraft para ser tratadas posteriormente en el laboratorio. Luego de 1 semana de secar las flores a bajo la sombra, se procedió a secar en estufa a 30 °C para luego realizar la molienda

y acondicionamiento en frasco de boca ancha, luego del acondicionado de la droga se realizó la marcha fitoquímica que permitió identificar los metabolitos secundarios presentes las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo).

2.6.2 MUESTRA PARA LA CERTIFICACIÓN TAXONÓMICA:

Cuando la planta ya se encuentra totalmente seca se colocó sobre una cartulina blanca, a la que se fija con unas tiras adhesivas que nos permitió desmontar el material en caso de que fuera necesario. Luego se envió al Biólogo, profesional encargado de su clasificación taxonómica (ver anexo 1).

2.6.3 MARCHA FITOQUÍMICA:

Con la finalidad de identificar las sustancias responsables de las propiedades terapéuticas que presentan las especies vegetales, diferenciando unas de otras, se realizó la marcha fitoquímica preliminar, en esta etapa se logró detectar de forma cualitativa los diferentes metabolitos que se encuentran en las especies vegetales, en las diferentes fracciones analizadas, a las cuales se le realizó reacciones químicas de coloración y/o precipitación.

Obtención de las fracciones:

Se emplearon 20g de muestra seca y molida las cuales fueron maceradas con etanol durante 48 horas. Posteriormente se sometió a reflujo por 8 horas, posteriormente se filtró y concentro a volumen final de 50 ml. Se separó 10 ml de extracto etanólico lo cual constituye la **fracción A**.

Los 40 ml restantes se secan a presión reducida en un matraz Erlenmeyer previamente pesado, al finalizar se pesa nuevamente el matraz y por diferencia se obtiene el peso del extracto seco.

Extraer el extracto seco con 10 ml de HCl 2% (v/v) a 50 °C. Si es necesario agregar más solución del ácido, evitando que el volumen final exceda de 15 ml El insoluble se lava con agua destilada y se disuelve con diclorometano en caliente, se filtra y se lleva a un volumen final de 10 mL; esto constituye la **fracción B**.

La solución acida se neutraliza con NaOH o KOH al 10% controlando con papel de tornasol. Se extrae con 2 porciones de 15 ml de diclorometano, se juntan las 2 fases orgánicas, se filtran sulfato de sodio anhidro y se llevan a un volumen final de 10 ml, esto constituye la fracción C. (17 gotas de Naoh al 10%).

A la fase acuosa se le agrega 2 g de NaCl y se extrae con 2 porciones de 15 ml de diclorometano – etanol (3:2), se juntan las 2 fases orgánicas, se filtran sobre sulfato de sodio anhidro y se lleva a un volumen final de 10 ml, esto constituye la **fracción D**.

La solución acuosa restante se lleva a un volumen final de 10 mL, esto constituye la **fracción E**.

1g de muestra seca y molida se extrae con agua destilada por ebullición durante 10 minutos, se filtra y se lleva a un volumen final de 10 mL; esto constituye la **fracción F**.

2.6.4 REACCIONES DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Fracción A:

- 2 ml de la fracción A se llevan a sequedad, el residuo se disuelve con 2 ml de agua destilada, se filtra y sobre la solución se realizan los ensayos de gelatina y cloruro férrico.

Detección: taninos

Reacción: gelatina

- Tomar 0.5 ml de la fracción A y agregar 0.5 ml de solución acuosa de gelatina al 0.5%. la reacción es positiva si aparece turbidez o precipitado.

Detección: grupos fenólicos libres

Reacción: cloruro férrico

- Tomar 0.5 ml de la fracción A y añadir 1-2 gotas de solución acuosa de cloruro férrico al 0.5% la reacción es positiva si aparece un color intenso azul, negro o verde.

Fracción B:

- Sobre esta fracción se realizan directamente los ensayos de liebermann – Burchard y de Borntrager.

Detección: Triterpenos y esteroides

Reacción: Liebermann – Burchard

- Tomar 0.5 ml de la fracción B, se agregan 0.5 ml de anhídrido acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado, la reacción es positiva si aparece un color azul, verde o naranja.

Detección: antraquinonas

Reacción: Borntrager.

- Tomar 0.5 ml de la fracción B, se agitan suavemente con 5 ml de NaOH 5% y si se observa color rojo la reacción es positiva.

Fracción C

- Sobre esta fracción se realizan directamente la reacción de Liebermann – Burchard

Detección: Triterpenos y esteroides

Reacción: Liebermann – Burchard

- Se procede igual que en los casos anteriores.

Detección: alcaloides

Reacción: Mayer, Hager y Dragendorff

- Tomar 2 ml de la fracción C y llevar a sequedad, el residuo se disuelve con 5 ml de ac. Clorhídrico 1% calentando ligeramente a 50 °C, sobre esta solución se hacen las reacciones de alcaloides: Mayer Hager y Dragendorff. Para los ensayos se toma 0.5 ml de la solución y se le agregan gotas del reactivo correspondiente. La reacción es positiva si a los 10 minutos se observa turbidez o precipitado en los 3 tubos.

Fracción D

- Sobre esta fracción se realizan directamente la reacción de Lierbermann – Burchard

Detección: Triterpenos y esteroides

Reacción: Lierbermann – Burchard

- Tomar 0.5 mL de la fracción D se evapora a sequedad, el residuo se disuelve con 1 mL de diclorometano y se procede igual que en los casos anteriores.

Detección: alcaloides

Reacción: Mayer, Hager y Dragendorff

Se procede igual que en la fracción C

- Tomar 2 ml de la fracción D y llevar a sequedad, luego disolver con 5 ml de etanol calentando a 50 ml, sobre esta solución se realizan los ensayos de:

Detección: Flavonoides

Reacción: Shinoda

- Tomar 0.5 mL de la solución y agregar 0.2 mL de ácido clorhídrico concentrado, se agregan limaduras de magnesio. Se dejan 5 minutos. La reacción es positiva si aparece color rojo o rosado.

Fracción E

- Sobre esta fracción se realizan directamente los ensayos de Shinoda.

Detección: Flavonoides

Reacción: Shinoda

Proceder igual que en la **fracción D**

Fracción F:

- Colocar en un tubo de ensayo 1 mL de la fracción F, tapar y agitar fuertemente durante 15 segundos, luego de este tiempo se mide la altura de la espuma. La reacción es negativa si la altura de la espuma es menor de 5 ml.

Detección: saponinas

Reacción: prueba de espuma

2.6.5 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO POR PERCOLACIÓN

Luego de procesar las flores (secado y molienda), esta se acondicionó para luego pesar 50g.

Posteriormente se humecta con alcohol de 70 °C por 2 horas para conseguirla la apertura celular mediante la hidratación de la muestra.

Posterior a ello se colocó dentro del percolador acondicionado para la realización de la extracción continua

Una vez depositada la droga humectada en el percolador se procede a incorporar el solvente (alcohol de 70°), hasta cubrir con el solvente por encima de la muestra (*Lepidium sativum*).

Sobre la muestra se procede a colocar papel de filtro y 10 canicas para hacer presión. Este proceso se deja macerar por 24 horas.

Luego ello se procedió a:

- Se procedió a abrir la llave del percolador donde se encuentra la muestra para eliminar los primeros 10 ml de la muestra que son descartados posteriormente a ello.
- Se calibro a un flujo 20 gotas por minuto al mismo tiempo que se abre el flujo del solvente que se encuentra en la cámara superior para que vaya administrando 20 gotas por minuto en el depósito de la muestra de esta forma tenemos una extracción constante de 20 gotas por minuto de etanol sobre la muestra y al mismo tiempo el extracto va eliminando 20 gotas por el minuto de extracto en un recipiente de color ámbar.
- Se continuo con la extracción hasta agotamiento, es decir hasta el extracto deje de tener el color verde característico y se torne de color transparente, se detiene el proceso de percolación.

2.6.6 ELABORACIÓN DEL GEL CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA A BASE DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LAS FLORES *Lepidium sativum* (MASTUERZO) AL 2%

- Se procedió a disolver el carbopol 940 (15g) en agua con agitación vigorosa hasta evidenciar la ausencia de grumos.
- Se agregó los conservantes nipagin y nipasol.
- Se incorporó la trietanolamina gota a gota (2g) con agitación.
- Se agregó la glicerina, se procedió a envasar.
- Se reconstituyo 0.6 g de extracto blando para acondicionarla previa a la formulación

- Se inició pesando 20 g de gel base, posteriormente se añadió el extracto blando reconstituido y se completó con gel base a 30g de gel, obteniendo de esta forma una formulación al 2% de extracto alcohólico de la especie *Lepidium sativum* (mastuerzo).

2.7. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL GEL A PARTIR DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO LAS FLORES DE *Lepidium sativum* (mastuerzo).

El gel elaborado a partir del extracto alcohólico de flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo), se evaluó en la estufa a temperatura de $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ por un período de tres meses (90 días), este estudio se realizó según RM-253- 2017-MINSA, evaluando el análisis organoléptico de los siguientes parámetros: (20)

2.7.1 Aspecto: Un gel homogéneo, untuoso al tacto y libre de grumos, en la concentración del 2% para ello se tomó una pequeña cantidad de gel con los dedos y se untó suavemente en el dorso de la mano.

2.7.2 Color: Un marrón claro para la concentración al 2%, se colocó una pequeña muestra en un vaso de precipitado y se observó a contraluz.

2.7.3 Olor: característico de la flor para la concentración 2%. Para ello, utilizando la mano es posible llevar una pequeña cantidad de vapor hasta la nariz.

2.7.4 Consistencia: fluida, semiviscoso, viscoso.

2.7.5 Análisis fisicoquímico (pH): Determinación de pH, mediante el potenciómetro previamente calibrado con solución tampón de pH 4 y 7. Se lavó con agua destilada el electrodo del potenciómetro y secó con papel filtro. En un vaso de precipitado se colocó 25 g del gel e introducimos el electrodo, anotando los resultados de pH.

2.8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

2.8.1 INDUCCION DE EDEMA AURICULAR

La inflamación del pabellón auricular del ratón se logró aplicando un agente flogógeno, (aceite de crotón). Para este propósito, se utilizó aceite de crotón, y la inflamación se evaluó mediante la comparación del peso de la oreja tratada con el agente químico y el peso de la oreja sin tratar.

Procedimiento general

Se organizaron 4 grupos de 6 ratones, con un peso aproximado de entre 25 y 30 gramos. Sin restricción de alimentos ni agua. La administración de las sustancias a evaluar fue administrada por vía tópica.

Preparación del agente irritante (solución de aceite de crotón)

Se diluye 200 ug de aceite de crotón en 20 uL de una solución de acetona y agua en proporción 7 : 3,

Entonces tendremos que:

200 ug = 0,2 uL; pero prepararemos 2 uL de crotón para diluir en 200 uL de solución de acetona y agua 7 : 3.

Por ello se diluirá 0.2 uL de crotón en 20 ul de solución de acetona. Pero trabajaremos con una medida de 10 uL de crotón y 1000 uL de solución de acetona.

Como resultado tendremos 1010 uL de crotón para trabajar.

Para ello se preparó 4 grupos de 6 ratones para el desarrollo de la técnica.

- Grupo Agente Flogógeno
- Grupo *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 5%
- Grupo Extracto gel elaborado a base del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2%
- Grupo Diclofenaco gel al 1%

El fármaco de referencia es diclofenaco en gel al 1% a una dosis de 0.5 mg por oreja (de forma que abarque todo el pabellón de la oreja).

Descripción de la técnica

Si la solubilidad lo permite, la sustancia en estudio estudio (gel elaborado a base del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* al 2%) es administrado junto al agente irritante, y en caso contrario, se administra en primer lugar el agente flogógeno, posteriormente se administran las sustancias que son objeto de investigación. (extracto alcohólico al 5% de las flores, gel al 2% del extracto alcohólico de las flores, diclofenaco al 1%)

Después de transcurrir 4 horas, los ratones son sacrificados por dislocación cervical. Luego, se toma una muestra circular de la oreja inflamada utilizando un sacabocados, de la misma manera que se realiza con la oreja no inflamada. El promedio de las diferencias de peso entre las dos porciones nos da una medida de la extensión del edema en cada grupo. Se asigna un valor del 100% al grupo que recibe únicamente el aceite de crotón y, a partir de ahí, se calcula el porcentaje de reducción del edema en cada uno de los grupos tratados.

Evaluación del factor de inflamación tras la administración de la solución de aceite de crotón

La dosis administrada a los ratones consistía en 10 μL de solución de aceite de crotón en cada lado de la oreja (20 μL en total). Se trataba una oreja, mientras que la otra se dejaba sin tratamiento para servir como control negativo.

Cuatro horas después de la administración, los ratones son sacrificados mediante un traumatismo en las vértebras cervicales. Inmediatamente, con la ayuda de un sacabocados, se extrae un círculo de la oreja (sin causar daño excesivo) para pesarlo y calcular el factor de inflamación.

El factor de inflamación se obtiene calculando la media aritmética del peso de las orejas estudiadas.

La administración del extracto blando, formula base, gel a base del extracto alcohólico con las diferentes concentraciones y fármaco control se administraron 15 minutos después de haber administrado el agente irritante.

2.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Mediante la observación directa, medición y registro de las medidas del peso de las orejas, del basal de cada tiempo, Los datos son registrados en cuadros de datos experimentales. Aplicándose luego la estadística descriptiva en media aritmética y desviación estándar utilizando el programa de MINITAB 18.

III. RESULTADOS

3.1. Resultados obtenidos de la Marcha Fitoquímica preliminar especie *Lepidium sativum* (mastuerzo)

Tabla N°1: Fracción A

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Taninos	Sol. de Gelatina	+	Turbidez
Grupos fenólicos libres	Sol. De FeCl ₃	+	Coloración verde oscuro

Tabla N°2: Fracción B

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Triterpenos y Esteroides	Liebermann y Burchard	+	Coloración Azul
Antraquinonas	Borntrager	+	Color rojo

Tabla N°3: Fracción C

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Alcaloides	Dragendorff	+	Precipitado Rojo
	Mayer	+	Precipitado blanco
	Wagner	+	Precipitado marrón
	Hager	+	Precipitado amarillo
Triterpenos y Esteroides	Liebermann y Burchard	+	Coloración Azul

Tabla N°4: Fracción D

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Flavonoides	Shinoda	+	Coloración rojiza
Alcaloides	Dragendorff	+	Precipitado Rojo
	Mayer	+	Precipitado blanco
	Wagner	+	Precipitado marrón
	Hager	+	Precipitado amarillo
Triterpenos y Esteroides	Liebermann y Burchard	+	Coloración Azul

Tabla N°5: Fracción E

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Flavonoides	Shinoda	+	Coloración rojiza

Tabla N°6: Fracción F

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Saponinas	Prueba de Espuma	-	-----

Leyenda:

- (+) **Reacción Positiva**
- (-) **Reacción Negativa**

Tabla N° 7:

Estudio de estabilidad del gel a partir del elaborado a base del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2%

Evaluación preliminar del GEL BASE	
Parámetros	Resultados
pH 4,5-5,9	5.68
Olor	Característico
Color	Transparente
Aspecto: separación de fases, precipitación	No hay
consistencia	viscosa
Evaluación preliminar del Gel elaborado a base del extracto alcohólico de <i>Lepidium sativum</i> (mastuerzo) al 2%	
pH 4,5-5,9	
Olor	Característico
Color	Marrón claro
Aspecto: separación de fases, precipitación	No hay
consistencia	viscosa

Fuente: El autor

Tabla N° 8:

Resultados del porcentaje de inflamación inducido tras la administración del Aceite de Crotón

Ratón	Oreja Izquierda (crotón)	Oreja Derecha (control)	% de inflamación
Ratón 1	0,008 gramos	0,004 gramos	100
Ratón 2	0,009 gramos	0,004 gramos	125
Ratón 3	0,007 gramos	0,004 gramos	75
Ratón 4	0,007 gramos	0,004 gramos	75
Ratón 5	0,008 gramos	0,004 gramos	100
Ratón 6	0,009 gramos	0,004 gramos	125
		% total de inflamación	100

- **Resultado:** el factor de inflamación es del **100%**
- **Fuente:** El autor

Tabla N° 09:

Resultado de la Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de al 5%

<i>Ratón</i>	<i>Oreja izquierda (Crotón + extracto)</i>	<i>Oreja derecha (control)</i>	<i>% de inflamación</i>
<i>ratón 1</i>	0,0047 gramos	0.004 gramos	17.5
<i>ratón 2</i>	0,0049 gramos	0.004 gramos	22.5
<i>ratón 3</i>	0,0045 gramos	0.004 gramos	12.5
<i>ratón 4</i>	0,0047 gramos	0.004 gramos	17.5
<i>ratón 5</i>	0,0045 gramos	0.004 gramos	12.5
<i>ratón 6</i>	0,0048 gramos	0.004 gramos	20
		% total de inflamación	17
		% de efectividad	83

- **Resultado:** La eficacia del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 5% es de **83%**
- **Fuente:** El autor

Tabla N° 10

Resultado de la evaluación del gel con actividad antiinflamatoria elaborado a base del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2%

<i>Ratón</i>	<i>Oreja izquierda (crotón + gel)</i>	<i>Oreja derecha (control)</i>	<i>% de inflamación</i>
<i>ratón 1</i>	0.0051	0.0040	27.5
<i>ratón 2</i>	0.0053	0.0039	37.5
<i>ratón 3</i>	0.0056	0.0043	30
<i>ratón 4</i>	0.0052	0.0040	30
<i>ratón 5</i>	0.0054	0.0040	35
<i>ratón 6</i>	0.0049	0.0038	30
		% total de inflamación	31.6
		% de efectividad	68.4

Resultado: La eficacia del gel con actividad antiinflamatoria elaborado a base del extracto alcohólico de la *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2% es de 68.4%.

- **Fuente:** El Autor.

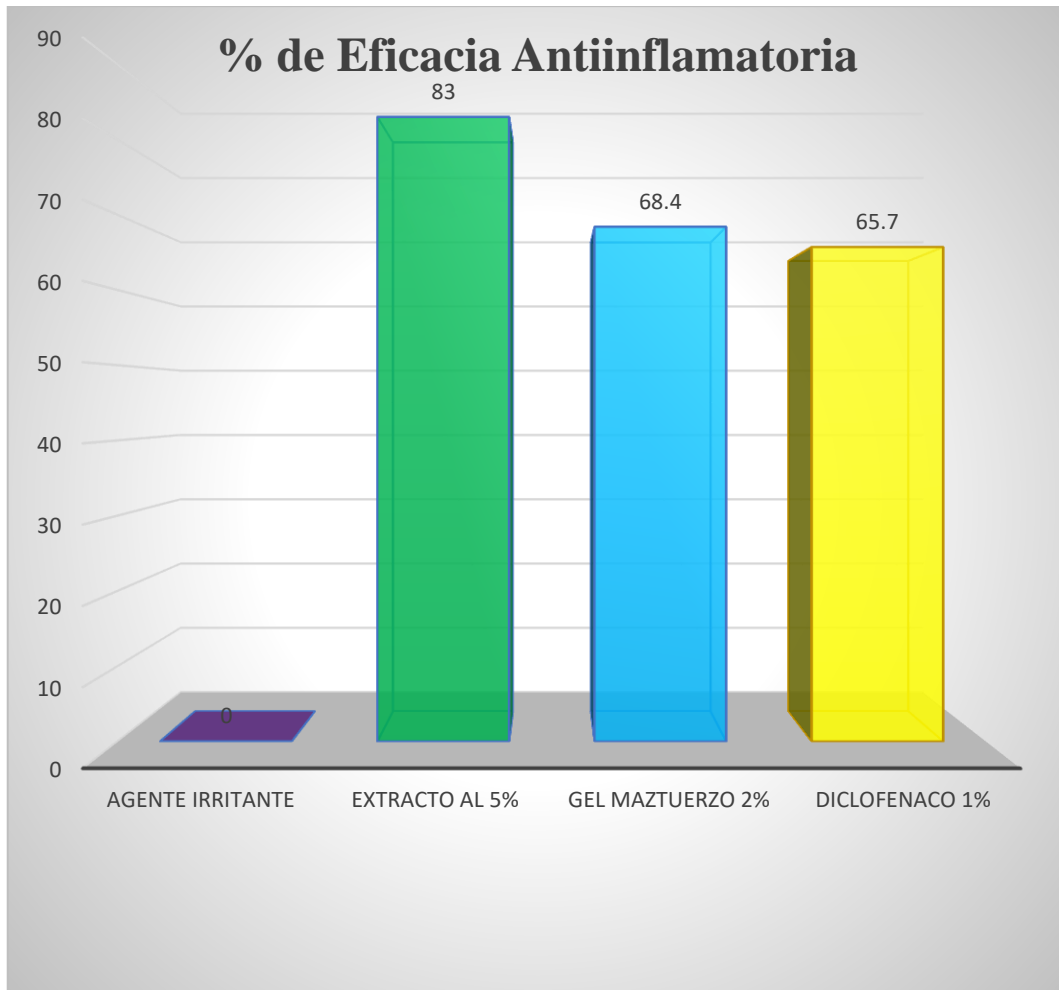
Tabla N° 11:

Resultado de la Evaluación de la actividad antiinflamatoria del Diclofenaco Gel al 1%

<i>Ratón</i>	<i>Oreja izquierda (Crotón + diclofenaco gel)</i>	<i>Oreja derecha (Control)</i>	<i>% de inflamación</i>
<i>ratón 1</i>	0.0063	0.0047	35
<i>ratón 2</i>	0.0057	0.0043	34
<i>ratón 3</i>	0.0069	0.0051	35
<i>ratón 4</i>	0.0071	0.0053	34
<i>ratón 5</i>	0.0066	0.0050	33
<i>ratón 6</i>	0.0069	0.0051	35
		% total de inflamación	34.3
		% de efectividad	65.7

Resultado: La eficacia del Diclofenaco Gel es de 65.7%

- **Fuente:** El Autor.



La aplicación de los distintos tratamientos, permitió evaluar los diferentes porcentajes de eficacia de los mismos, teniendo como tales los siguientes resultados, para la eficacia antiinflamatoria según el tipo de tratamiento aplicado, agente irritante (0%), extracto alcohólico al 2% (83%), gel maztuerzo 2% (68.4%), diclofenaco gel 1% (65.7%)

ANOVA de un solo factor: control; extracto alcohólico 5%; gel extracto alcohólico 2%; diclofenaco 1%

Método

<i>Hipótesis nula</i>	Todas las medias son iguales
<i>Hipótesis alterna</i>	No todas las medias son iguales
<i>Nivel de significancia</i>	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

<i>Factor</i>	<i>Niveles</i>	<i>Valores</i>
Factor	4	Control; Extracto alcohólico 5%; Gel extracto alcohólico 2%; diclofenaco 1%

TABLA N° 12
Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
<i>Factor</i>	3	24561	8187.0	61.69	0.000
<i>Error</i>	20	2654	132.7		
<i>Total</i>	23	27215			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
11.5204	90.25%	88.78%	85.96%

Medias

<i>Factor</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>IC de 95%</i>
<i>Control</i>	6	100.00	22.36	(90.19; 109.81)
<i>Extracto alcohólico 5%</i>	6	17.08	4.01	(7.27; 26.89)
<i>Gel extracto alcohólico 2%</i>	6	31.67	3.76	(21.86; 41.48)
<i>Diclofenaco 1%</i>	6	34.333	0.816	(24.523; 44.144)

Desv.Est. agrupada = 11.5204

En la última columna de la Tabla N° 13 se observa que el p valor de la prueba ANOVA es significativo (p valor $< 0,05$), por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, es decir que el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de mastuerzo presenta actividad o efecto antiinflamatorio.

Tabla N° 13
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

<i>Factor</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
<i>Control</i>	6	100.00	A	
<i>Diclofenaco 1%</i>	6	34.333		B
<i>Gel extracto alcohólico 2%</i>	6	31.67		B
<i>Extracto alcohólico 5%</i>	6	17.08		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Técnica estadística: Comparaciones en pareja de Tukey al 95% de confianza. Criterio: si las medias no comparten una letra son significativamente diferente, lo que indica que el extracto alcohólico al 5% y el gel elaborado a partir del extracto alcohólico al 2% presentan actividad antiinflamatoria.

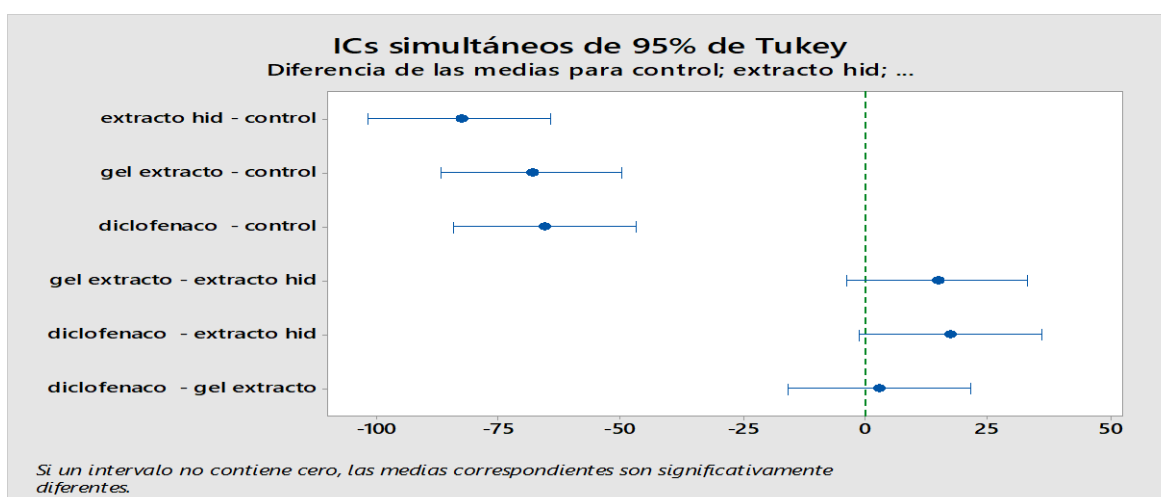


Fig.N°4. ICs simultáneos de 95% de Tukey

El gráfico de la fig. 4, muestra que los tratamientos con el extracto al 5% y el gel elaborado con extracto al 2% presentaron actividad antiinflamatoria. También muestra que no hay mucha

diferencia efecto antiinflamatorio entre el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2% y el gel de diclofenaco al 1%.

IV. DISCUSIÓN

En las tablas N° 1, 2, 3, 4, 5 y 6 muestran los resultados del screening fitoquímico realizado a la especie *Lepidium sativum* según screening fitoquímico propuesta por la Dra. Olga Lock de Ugaz que permite identificar los metabolitos secundarios mediante reacciones de precipitación y coloración (26). En las pruebas realizadas se obtuvo como metabolitos secundarios: taninos, grupos fenólicos libres, flavonoides, antraquinonas, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides. Lo que concuerda en parte con el estudio realizado por Carbajal O. et al. (2019) donde el screening realizado al extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris*, muestra claramente la presencia abundante de triterpenos y esteroides, a diferencia de los alcaloides y saponinas, que solo se encontraron en cantidades normales. Además, se detectaron 26 antocianinas, mientras que no se detectaron flavonoides, compuestos fenólicos y quinonas en pequeñas cantidades. Según la literatura, los triterpenos y esteroides pueden tener efectos antiulcerosos y antiinflamatorios. (22)

Según diversos reportes científicos los flavonoides y triterpenos son los posibles causantes de la actividad antiinflamatoria. Los flavonoides, una clase de metabolitos aromáticos ampliamente distribuidos en la naturaleza, poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antiinflamatoria (Gerritsen *et al.*, 1995) En 2001 se ha reportado que un extracto de *Tripterygium wilfordii* Hook. f. (Celastraceae) que contenía terpenos y compuestos relacionados inhibía notablemente la síntesis de mRNA y la expresión de las proteínas MMP-3 y MMP-13, inducida por citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-17 y TNF- en osteoartritis primaria humana (concentración media inhibitoria, IC50 > 5 g/mL). (23)

Para la elaboración del gel en estudio, se prefirió por su fácil secado creando una capa que es fácil de lavar y proporciona sensación de frescor en la piel, como explican Afrinanda R. et al. (2018). Su investigación también demuestra que, para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia del gel, es necesario realizar pruebas de estabilidad física. (24) En nuestra investigación, realizamos el análisis organoléptico, fisicoquímico del gel formulado a concentración 2% de extracto alcohólico de flores de *Lepidium sativum*. Los excipientes utilizados en la preparación fueron Carbopol 940, nipagin, nipasol, glicerina, trietanolamina, y agua destilada, que presentaron buena compatibilidad con el extracto alcohólico de flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo), que coinciden en parte con los empleados en los preparados elaborados en los estudios de Afrinanda R. et al. (2018), Rao S. et al. (2018), Aiyalu R. et al. (2016), Bendezú M, Franco E. (2019), y Mendoza A. (2018). (24)

En la tabla N° 8, se observa que, tras la administración del aceite de Crotón, flogisto inductor del edema auricular que el factor de inflamación es del 100% Al evaluar la actividad inflamatoria de los grupos tratados muestra los siguientes resultados: El extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 5% presenta una eficacia es de 83% (tabla N° 9), el gel elaborado a partir de *Lepidium*

sativum (mastuerzo) administrado a una concentración del 2% presenta una eficacia de 68.4%. según tabla N° 10 y la eficacia del fármaco control el gel de diclofenaco al 1° es de 65.7% (tabla N° 11). De los resultados obtenidos se muestra que no hay mucha diferencia efecto antiinflamatorio entre el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2% y el gel de diclofenaco al 1% (65.7%), se concluye que ambos ejercen acción antiinflamatoria, el fitofármaco y el fármaco de referencia. El primero por presentar como metabolitos secundarios flavonoide y triterpenos, y el segundo por ser un AINE (diclofenaco que actúa inhibiendo la COX-1). Lo que concuerda con el estudio realizado por *Cleverson Ferreira et al. (2017)*, que evaluó el efecto antiinflamatorio en la *Malva sylvestris*, *Sida cordifolia* y *Pelargonium graveolens* por medio de la inhibición de prostanoïdes. Las fracciones de cloroformo y acetato de etilo de la *M. sylvestris* pudieron inhibir todas las prostaglandinas analizadas, pero la fracción acuosa no inhibió la producción de tromboxano, lo que demuestra un bloqueo general de la vía de las prostaglandinas. Se cree que los efectos antiinflamatorios de *M. sylvestris* están directamente relacionados con la vía de la ciclooxigenasa a través de compuestos polares, principalmente en las fracciones de acetato de etilo y cloroformo. Además, algunos estudios sugieren que pueden estar implicados efectos antiinflamatorios. con metabolitos solubles en agua como flavonoides, antocianinas, taninos y alcaloides. (25)

V. CONCLUSIONES

En los estudios realizados de la Elaboración de un gel con actividad antiinflamatorio, empleando los extractos alcohólicos de la especie *Lepidium sativum* (mastuerzo) 2%. concluimos lo siguiente.

1. Se determinó mediante edema auricular por aceite de crotón, que el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) presenta actividad antiinflamatoria.
2. De los resultados del screening fitoquímico realizado al extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) se concluyó que presenta como metabolitos secundarios flavonoides y triterpenos y/o esteroides que según literatura son posibles moléculas que presentan efecto antiinflamatorio.
3. Se determinó la eficacia antiinflamatoria del extracto alcohólico al 5% de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) mediante inducción de edema auricular por aceite de crotón la cual fue de un 83%.
4. Con base en análisis sensoriales y pH, se demostró que el gel que contenía extracto alcohólico al 2% de flores de *Lepidium sativum* mostró buena estabilidad durante el período de prueba (90 días). Y que presenta una eficacia antiinflamatoria de 68.4%. Además, al comparar la eficacia antiinflamatoria del gel elaborado con extracto alcohólico al 2% de *Lepidium sativum* (mastuerzo) y el fármaco de referencia diclofenaco en gel al 1% (65.7%) concluimos que ambos presentan buena eficacia antiinflamatoria, siendo el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo) al 2% el de mayor actividad antiinflamatoria.

VI. RECOMENDACIONES

1. Aislar los metabolitos secundarios flavonoides, triterpenos y/o esteroides presentes en la especie *Lepidium sativum* (mastuerzo), responsables de la actividad antiinflamatoria y revalidar su eficacia.
2. Continuar los estudios de la formulación propuesta y proponer la elaboración de otras formas farmacéuticas.
3. Determinar la influencia del pH sobre la estabilidad del gel con el extracto alcohólico al 5% a fin de obtener un gel con mayor actividad antiinflamatoria.
4. Continuar con los estudios fitoquímicos farmacológicos a fin de validar los usos terapéuticos de la flora peruana que la medicina tradicional les atribuye, en especial la de la región de Ica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Enfermedades no transmisibles [Internet]. Who.int. [citado el 23 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
2. Raval N., Ravishankar B., Ashok B. Anti-inflammatory effect of Chandrashura (*Lepidium sativum* Linn.) an experimental study. Ayu. [Internet]. 34(3):302-4. 2013. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3902599/>
3. Ayala C. Actividad antiinflamatoria de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de *Mirabilis jalapa* L. “Maravilla” en ratones albinos. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Roosevelt. Huancayo- Perú. 2022.
4. Inga G. Efecto antiinflamatorio del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Senecio rudbeckiifolius* (ramilla) en ratas albinas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Universidad María Auxiliadora. Lima – Perú. 2022.
5. Estacio M. Estudio Comparativo del Efecto Antiinflamatorio del *Plantago Major* “Llantén” y del Diclofenaco, Facultad de Medicina Humana. Universidad San Martin de Porres. Lima – Perú. 2018.
6. Matiz G. Actividad antiinflamatoria de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* L. (Swartz). Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud. ISSN: 0121-0807. Universidad Industrial de Santander. Colombia. 2018.
7. Camacho M. Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo Tail Flick del extracto etanólico de *Delea isidori* Barneby “Yerbechil”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 2017.
8. Gufé C. Un femur curado, primer signo de civilización [Internet]. La Voz de Galicia. 2023 [citado el 23 de diciembre de 2024]. Disponible en: https://www.lavozdegalicia.es/noticia/opinion/2023/09/03/femur-curado-primer-signo-civilizacion/0003_202309G3P12996.htm
9. Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., Patil, P. D., & Patel, B. N. *Lepidium sativum* Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications. International Journal of Biological Macromolecules, 65, 72–80. 2014. Disponible en: doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.01.008.
10. Usos, propiedades y aplicaciones medicinales de berro de jardín (*Lepidium Sativum*) para pacientes y consumidores [Internet]. Medizzine.com. Disponible en: https://www.medizzine.com/plantas2/berro_de_jardin.php
11. García Barreno, Pedro. Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, ISSN 1137-2141, Vol. 102, N° 1, 2008 (Ejemplar dedicado a: IX Programa de

- promoción de la cultura científica y tecnológica), págs. 91-160. 2008. Disponible en: <https://docplayer.es/3160346-Inflamacion-rev-r-acad-cienc-exact-fis-nat-esp-vol-102-no-1-pp-91-159-2008-ix-programa-de-promocion-de-la-cultura-cientifica-y-tecnologica.html>
12. García de lorenzo y mateos A, López martínez J, Ssánchez castilla M. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Med Intensiva* [Internet]. 24(8):353–60. 2000. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5691\(00\)79622-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5691(00)79622-7)
 13. Guzmán, J; Rivera, M. “Conocimientos, actitudes y prácticas del uso de fitofármacos por usuarios del instituto de estudios superiores de medicina oriental (iesmo), managua, en el mes de noviembre del año 2013”. Managua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 2014. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877492/conocimientos-actitudes-y-practicas-del.pdf>
 14. Mora, C.; sirias, A.; Octavio, L. “Evaluación de la calidad microbiológica de cuatro formas fitoterapéuticas que se expenden en los diferentes centros botánicos de la ciudad de León”. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 2014. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/4223/1/230210.pdf>
 15. Robledo, G. B. V. Inflamación. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 51(5), 220-222. México. 2008. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2008/un085k.pdf>
 16. Batlouni M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2010. Apr;94(4):556–63. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2010000400019>
 17. García, E. C., & Solís, I. M. *Manual de fitoterapia*. 3ra ed. España. Elsevier Health Sciences; 2021.
 18. Alonso J. *Tratado de Fitofármacos y nutraceuticos*. 2da ed. Buenos Aires. Editorial Corpus; 2004.
 19. Diego M, Del Arco J. “Geles”. [Internet] Disponible en: <https://botplusweb.farmaceuticos.com/documentos/2016/11/29/104989.pdf>
 20. Ministerio de Salud. Reglamento que regula los estudios de estabilidad de especialidades farmacéuticas. [Internet]. R.M. 253-2017-MINSA. [citado el 18 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normaslegales/189837-253-2017-minsa>
 21. Ecosostenibile. *Lepidium sativum: Sistemática, Etimología, Hábitat, Cultivo*. [Internet]. Un mundo ecosostenible. 2022. Disponible en: <https://antropocene.it/es/2022/12/04/lepidium-sativum-3/>
 22. Carbajal D, Rodriguez L., Yupanqui S., Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Malva sylvestris* en *Rattus norvegicus* *HOLTZMAN* [Internet] Universidad María Auxiliadora. Lima - Perú. 2019. Disponible en:

- <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/240/BACHILLER%20240-CARBAJAL-RODRIGUEZ-YUPANQUI.pdf?sequence=3&isAllowed=y#:~:text=La%20especie%20Malva%20sylvestris%2C%20ha,acci%C3%B3n%20astringente%20y%20principalmente%2C%20antiulceroso.>
23. Gómez E, Harold A; González R, Noreica K; Medina M, José. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Vol. 10. Num. 3. 2011. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/400119016/efecto-inflamatorio>
 24. Chacaltana, M., Laureano, C. “Formulación de un gel a partir del extracto etanólico de las hojas de *Mangifera indica* L. “mango” con efecto antiinflamatorio en ratones. [Tesis título Profesional] Universidad Norbert Wiener. Lima-Perú. 2019. Disponible en: https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/5017/T061_48451860_45094908_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 25. Cervantes V, Lozano J, Camacho O. Generalidades de *Malva sylvestris*, composición química y actividades biológicas. Una revisión. Investigación y Acción, Vol. 2. Num. 1 (2022). Disponible en: <https://investigaciones.uniatlantico.edu.co/revistas/index.php/Invefor/article/download/3683/4397/>
 26. Lock Sing de Ugaz, O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Perú. 1994

VIII. ANEXOS

8.1 Anexo N° 1 – Constancia de Uso de Laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CONSTANCIA

LA DIRECTORA ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACE CONSTAR QUE EL ESTUDIANTE:

MORENO AYBAR, ANDERSON JAIR

Código N° 20154036

Se le autoriza el uso de las instalaciones del laboratorio de **Química Orgánica**, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como título **Elaboración de un fitofármaco con actividad antiinflamatoria a partir del extracto alcohólico de las flores de *Lepidium sativum* (mastuerzo)**. y que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 16 de agosto 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
Dirección de Escuela Académica



Dra. ELIZABETH JULIA MELGAR MERINO
DIRECTORA (e).

8.2 Anexo N° 2 – Certificación botánica

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

“AÑO DEL BICENTENARIO, DE LA CONSOLIDACIÓN DE NUESTRA INDEPENDENCIA, Y DE LA CONMEMORACIÓN DE LAS HEROICAS BATALLAS DE JUNÍN Y AYACUCHO”

El Blgo. Que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” **ANDERSON JAIR MORENO AYBAR** con DNI N° 73101751 para su determinación, el cual pertenece al nombre científico de ***Lepidium sativum* L.** “mastuerzo”, según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: BRASSICALES

FAMILIA: BRASSICACEAE



GÉNERO: *Lepidium*

ESPECIE: *Lepidium sativum* L.

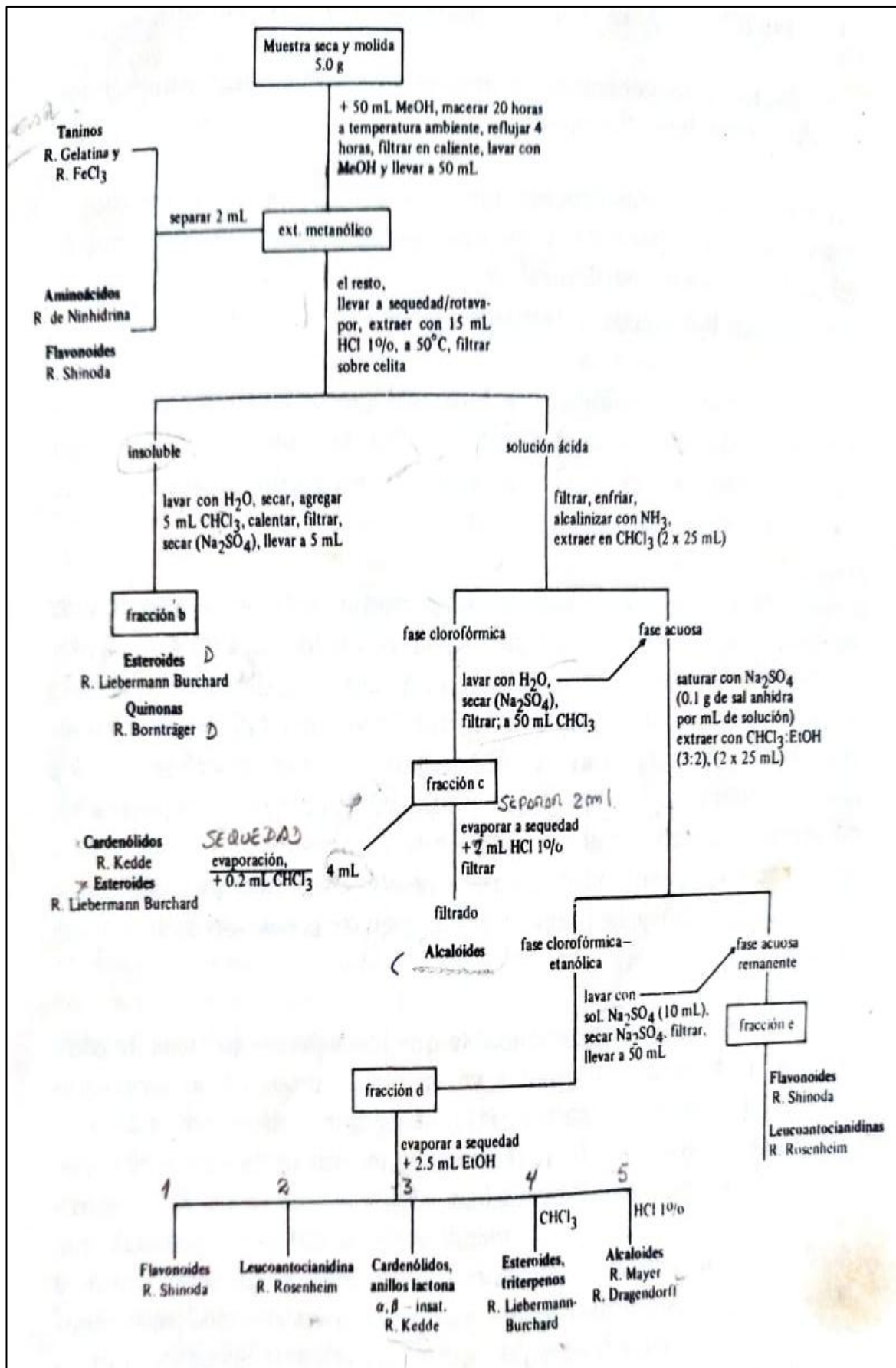
N.V. “mastuerzo”

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado para fines de estudio.



Ica 16 de agosto 2023


.....
Dr. Mirandé Huamán David Máximo
 BIÓLOGO
CBP, 3681

8.3 Anexo N° 3 – Flujograma de Marcha Fitoquímica realizada



8.4 Anexo N° 4 – Certificado Sanitario de los ratones usados

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO		
CERTIFICADO SANITARIO N° 151-2023			
Producto :	Ratón Albino	Lote N° :	M – 50 – 2023
Especie :	Mus <u>músculus</u>	Cantidad :	30
Cepa :	<u>Balb/c/CNPB</u>	Edad :	1 mes ½
Peso :	15 a 24gr.	Sexo :	macho
<u>Guía de Remisión</u> :	B002-0003529	Destino :	MORENO AYBAR ANDERSON
Fecha :	01-11-2023		
<p>El Médico Veterinario que suscribe, Jorge Luis Alarcón Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>			
Chorrillos, 09 de noviembre del 2023			
(Fecha de emisión del certificado)			
<p>Nota: El bioterio no se hace responsable por el estado los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>		 M.V. Jorge Ruiz Alarcón. C.M.V.P. 5052	

8.5 Anexo N° 5 – Certificado de Aprobación del CEI



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO

CEI-UNICA N°0032

El que suscribe, certifica que:
El **Proyecto de Investigación** Titulado

“Elaboración de un Fitofármaco con Actividad Antiinflamatoria a Partir del Extracto Alcohólico de las Flores de lepidium sativum (mastuerzo)”.

De los autores:

- **ESTUDIANTE:** BACH. MORENO AYBAR ANDERSON JAIR

Cumple con los procedimientos establecidos en el Reglamento del Comité de Ética para la investigación con seres humanos, animales y plantas de Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”, aprobado con R.R. N° 1305-UNICA-2020.

Se expide el presente a los 30 días mes de julio de 2024.



DR. FELIPE ARTEMIO SURCO LAOS
Presidente
Comité de Ética para la Investigación
Universidad Nacional San Luis Gonzaga
felipe.surco@unica.edu.pe

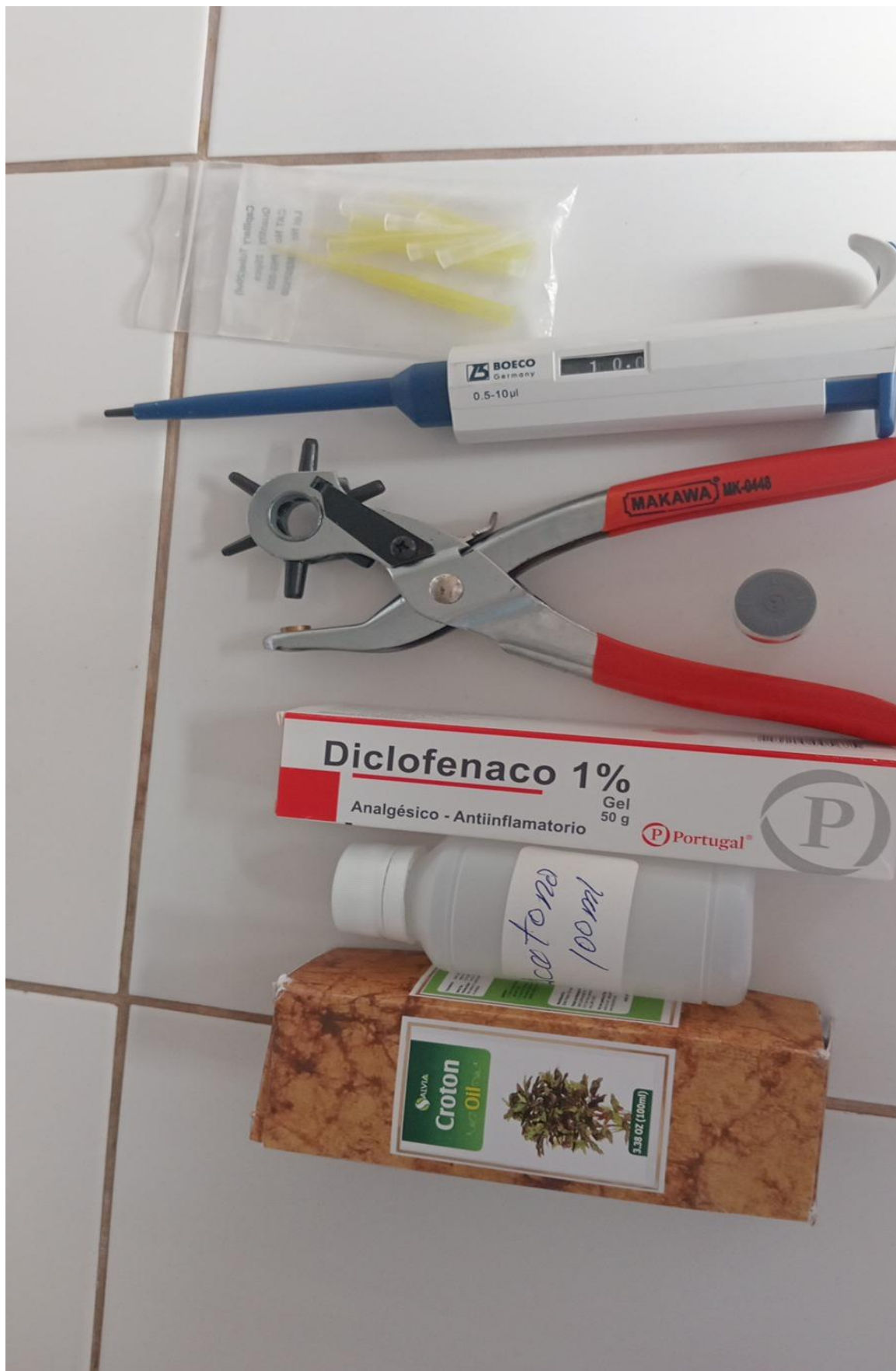
CÓDIGO: FAC. FAR. Y BIO.
VERSION:01
FECHA: 030-07-2024

8.6 Anexo N° 6 – Fotos del experimento

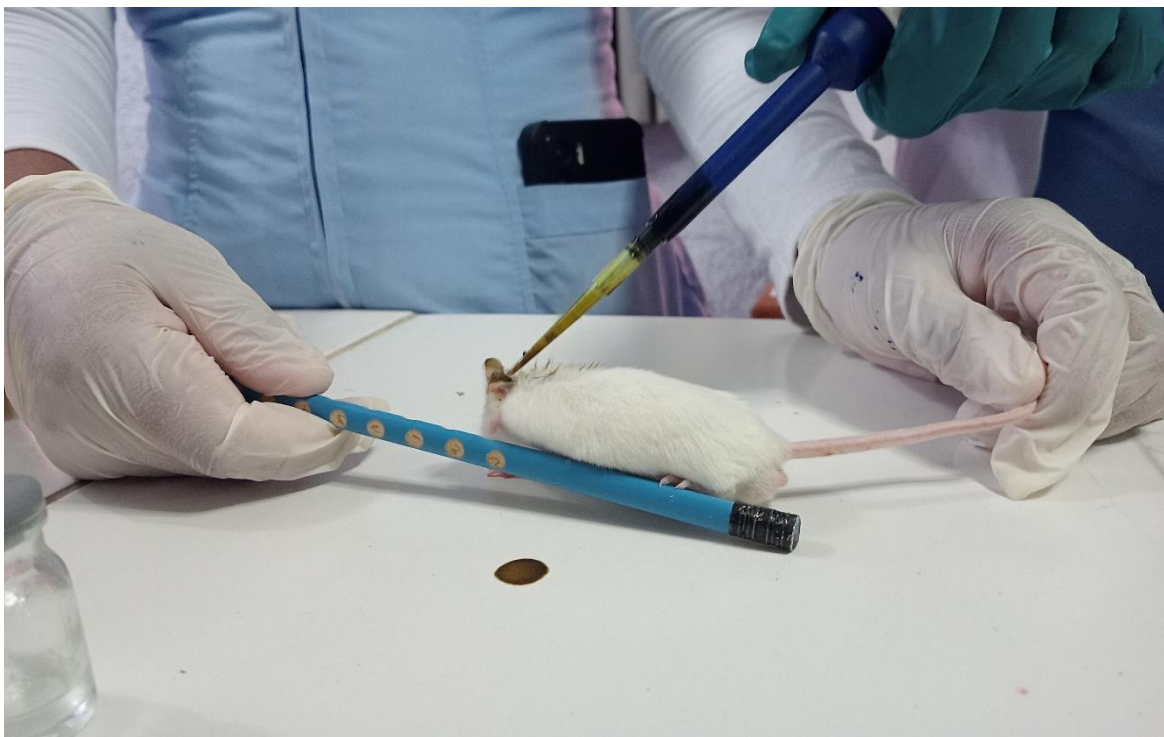
PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL



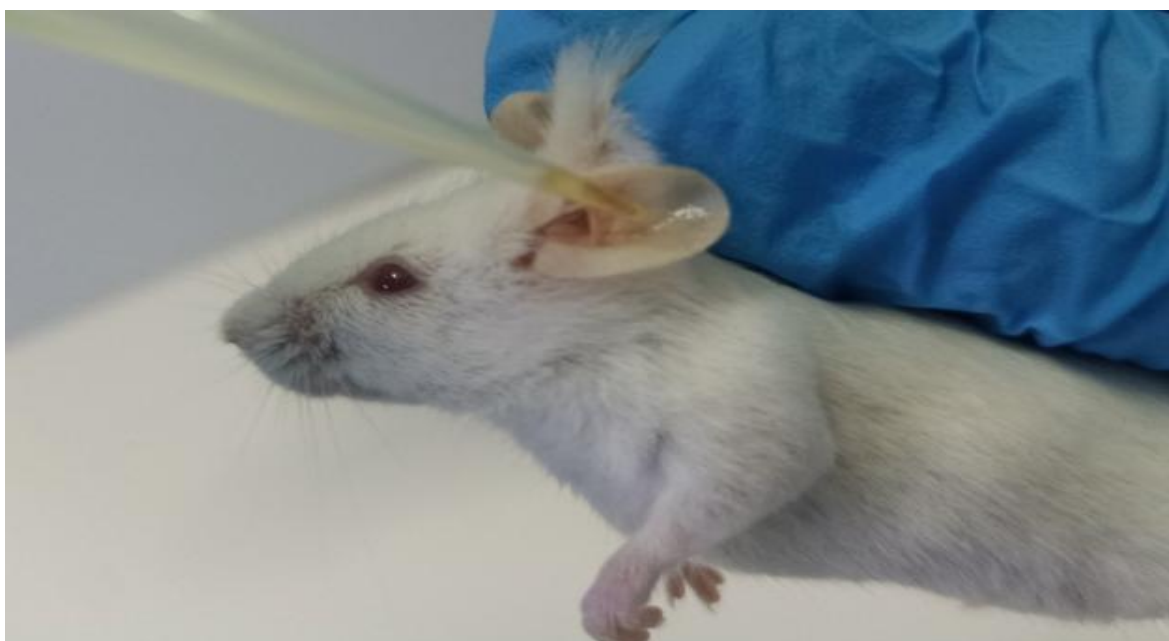
MATERIAL EMPLEADO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA



APLICACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE *LEPIDIUM SATIVUM* AL 5%



APLICACIÓN DEL GEL (2%) ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE LAS FLORES DE *LEPIDIUM SATIVUM* MASTUERZO



MÁS FOTOS DEL EXPERIMENTO

