

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA.

“EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Moringa oleifera* Lam (MORINGA) EN RATAS INDUCIDAS A INFLAMACIÓN AGUDA”

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

TESISTA: Bachiller. Rosales García, Leonardo Enrique

ASESOR: Mg. Q.F. Roa Chunga, Luis Alejandro

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A mis padres Eugenia y Enrique, de manera especial, por estar presentes en todo momento, por brindarme su apoyo moral, consejos y ejemplos a crecer como persona y culminar satisfactoriamente mi carrera profesional.

A mis dos pequeñas hijas, Emily Irene y Fernanda Daniela, quienes son mi principal motivación para esforzarme cada día y salir adelante, por ser mi fuente de inspiración y que con su corta edad me siguen enseñando cosas nuevas, alegrando cada momento de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A todos mis hermanos, por sus consejos, apoyo, fuerza e ideas incondicionales que me han ayudado a solucionar y superar dificultades a lo largo de mi vida.

A mi abuela Irma Ríos y a mis tíos Jacinto García Ríos y Marina Rosales Ríos, aunque ya no se encuentren con nosotros los llevaré en mi corazón como excelentes personas que me brindaron todo su cariño y apoyo siendo mi motivación desde pequeño para formar los pilares del inicio de esta carrera profesional.

A mi tío Patricio Ríos Jaramillo, por ser fuente de luz, claridad, motivación y orientación con sus consejos en los momentos que más los necesito.

A mi amigo Luis Alberto Cornejo Zapata, por su sincera y transparente amistad, por los momentos alegres y tristes que serán inolvidables y por demostrarme que siempre podré contar con él.

Al Mg. Q.F. Luis Alejandro Roa Chunga, por su experiencia, apoyo y colaboración como guía en el asesoramiento de esta tesis.

Al Dr. Q.F. José Nesquén Tasayco, por su apoyo como docente y orientación en los últimos cursos de la carrera profesional y como amigo y compañero por la confianza otorgada durante la permanencia en la misma empresa.

A mis familiares, amigos y compañeros que de alguna u otra manera contribuyeron con el desarrollo de esta tesis.

A los docentes de la universidad Inca Garcilaso de la Vega, por su contribución con los conocimientos, enseñanza y compromiso con el desarrollo de las asignaturas asignadas a lo largo del desarrollo de esta profesión.

A la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por ser alma mater y brindarme la formación profesional y formar parte del sueño alcanzado.

ÍNDICE

	Pág.
Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice	
Índice tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Problemas	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Justificación	5
1.5. Limitaciones metodológicas	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes Teóricos	8
2.1.1. Antecedentes nacionales	8

2.1.2. Antecedentes extranjeros	9
2.2. Bases teóricas y /o legales	12
2.3. Hipótesis	25
2.3.1. Hipótesis general	25
2.3.2. Hipótesis específicas	25
2.4. Definición de términos básicos	25
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	27
3.1. Tipo y Diseño de Investigación	27
3.2. Población y muestra	27
3.3. Equipos, materiales y reactivos	28
3.4. Procedimientos	30
3.5. Procesamiento de datos	33
3.6. Preparación de las soluciones y cálculos de las dosis	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	38
4.1. Presentación	38
4.2. Discusión	46
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
5.1. Conclusiones	49
5.2. Recomendaciones	50
REFERENCIAS	51
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Antiinflamatorios no esteroideos clasificado según estructura química.	20
Tabla 2: Antiinflamatorios no esteroideos clasificado según vida media plasmática.	20
Tabla 3: Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	38
Tabla 4: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	39
Tabla 5: Valores promedio de los volúmenes de la inflamación y porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) durante 7 horas de observación.	41
Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) en ratas.	43
Tabla 7: Prueba de Tukey para la eficacia antiinflamatoria durante 7 horas según grupos experimentales.	44
Tabla 8: Prueba de Dunnett según grupos de tratamiento y tiempo de observación.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Planta de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	14
Figura 2: Estructura fitoquímica de la <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	15
Figura 3: Mediadores químicos del proceso inflamatorio.	16
Figura 4: Síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina a partir del ácido araquidónico.	18
Figura 5: Efectos adversos de los fármacos AINES.	19
Figura 6: Esquema general de biosíntesis de los alcaloides.	22
Figura 7: Rutas biosintéticas de compuestos fenólicos.	23
Figura 8. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	39
Figura 9: Resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	40
Figura 10: Resultados de la eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) en ratas.	42
Figura 11: Volumen medio de inflamación (mL) del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) durante 7 horas de observación.	43

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Matriz de consistencia.	55
Anexo 2: Análisis descriptivo del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) en ratas.	57
Anexo 3: Prueba de Tukey para determinar la diferencia significativa entre los grupos de tratamiento.	58
Anexo 4: Clasificación taxonómica de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).	60
Anexo 5: Certificado Sanitario de ratas albinas.	61
Anexo 6 : Validación de instrumentos.	62
Anexo 7 : Plethysmometer PANLAB. (Modelo de pletismómetro referencial al utilizado).	65
Anexo 9: Valoración de Ibuprofeno.	67
Anexo 11: Valoración de Dexametasona.	68
Anexo 12: Valoración de Cloruro de sodio 0.9%.	69
Anexo 13: Testimonios fotográficos.	70

RESUMEN

El objetivo de la investigación realizada fue determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas inducidas a inflamación aguda. El edema plantar en la pata de la rata fue producido por inyección de 0.1 mL de carragenina en solución al 2%. Para medir la inflamación se usó un pletismómetro, la medida se realizó en cuatro momentos, a las 1, 3, 5 y 7 horas después de haber administrado por vía oral los tratamientos en todos los grupos experimentales. Para el ensayo experimental se utilizó 36 ratas hembras, con peso promedio de 220 g cepa Holtzman, las cuales fueron agrupadas en forma aleatoria en 6 grupos de 6 animales cada uno. A cada grupo se le administró el siguiente tratamiento: 1) Solución Salina Fisiológica 0.9% (5 mL/Kg); 2) Ibuprofeno (25 mg/Kg); 3) Dexametasona (2 mg/kg); los grupos 4, 5 y 6 recibieron extracto de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) de 200, 300 y 500 mg/Kg de peso respectivamente. Se observó que en el extracto seco de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) es muy soluble en agua y etanol, soluble en metanol, poco soluble en éter de petróleo e insoluble en cloroformo. El extracto contiene alcaloides, taninos, compuestos fenólicos y flavonoides. La dosis del extracto que mostró mayor efecto antiinflamatorio fue 500 mg/Kg (23,5%), el cual fue significativo comparado con el grupo control ($p < 0.05$) y similar al grupo de Dexametasona, la dosis de 200 mg/Kg (5,8%) tuvo un efecto similar al grupo de Ibuprofeno y la eficacia antiinflamatoria de la dosis de 300 mg fue de 17,6%. Como se observa, el efecto depende de la dosis. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) tiene efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.

Palabras clave: *Moringa oleifera* Lam, carragenina, inflamación, ratas.

ABSTRACT

The main objective of this research work was to determine the anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Moringa oleifera* Lam (Moringa) in rats induced to acute inflammation. The plantar edema in the paw of the rat was produced by injection of 0.1 mL of carrageenan in 2% solution. To measure the inflammation, a plethysmometer was used, the measurement was made at four times, at 1, 3, 5 and 7 hours after oral administration of the treatments in all the experimental groups. For the experimental test, 36 female rats were used, with an average weight of 220 g Holtzman strain, which were randomly grouped into 6 groups of 6 animals each. The following treatments were administered to each group: 1) Physiological Saline Solution (5 mL / Kg); 2) Ibuprofen (25 mg / Kg); 3) Dexamethasone (2 mg / kg); Groups 4, 5 and 6 received *Moringa oleifera* Lam (Moringa) extract of 200, 300 and 500 mg / Kg of weight respectively. It was observed that in the extract is very soluble in water and ethanol, soluble in methanol, poorly soluble in petroleum ether and insoluble in chloroform. The extract contains of chemical components such as alkaloids, tannins, phenolic compounds and flavonoids. The dose of the extract that showed the greatest anti-inflammatory effect was 500 mg / Kg (23.5%) which was significant compared to the control group ($p < 0.05$) and similar to the dexamethasone group, the dose of 200 mg / Kg (5, 8%) had an effect similar to the ibuprofen group and the anti-inflammatory efficacy of the 300 mg dose was 17.6%, as the effect is observed depending on the dose. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Moringa oleifera* Lam (Moringa) has an anti-inflammatory effect in rats induced to acute inflammation.

Keywords: *Moringa oleifera* Lam, carrageenan, inflammation, rats.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son empleadas con frecuencia por la población, en cuanto sus propiedades terapéuticas, conocimientos que derivan del saber tradicional, los mismos que han servido y sirven de fuente para las investigaciones fitoquímicas, identificación de constituyentes químicos, acciones y efectos biológicos en estudios pre clínico y clínicos, asimismo, para estudios toxicológicos con el fin de contribuir al mejor conocimiento de la medicina tradicional y promover la producción de fitofármacos ⁽¹⁾. Los estudios preclínicos se realizan usualmente en animales de experimentación para descubrir si una molécula, tratamiento o procedimiento tiene posibilidad de ser útil, se lleva a cabo antes de realizar ensayos en seres humanos. En este caso se realizó un estudio preclínico en modelo experimental animal sobre la inflamación. Se empleó el modelo del edema plantar inducido por carragenina. La inflamación es un proceso complejo que involucra cambios en la permeabilidad vascular y producción de mediadores de la inflamación como las citosinas, prostaglandinas, compuestos reactivos de oxígeno dando lugar a estrés oxidativo, producir daño a las células y promover la aparición de patologías crónicas ⁽²⁾. Las acciones de las plantas medicinales se debe a los fitocomplejos presentes en ellos, estos componentes se complementan entre sí, y por lo general, generan escasas reacciones adversas ⁽³⁾. Para hacer frente al estrés oxidativo se han empleado diversos componentes extraídos de plantas medicinales, como es el caso de los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, entre otros. Es así que surgió el interés por investigar las propiedades antiinflamatorias de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en modelos de animales de experimentación; esta especie es considerada como alimento que puede contribuir al tratamiento y prevención de enfermedades ya que se le atribuye propiedades terapéuticas antioxidantes ⁽⁴⁾. Las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) son comestibles contienen aminoácidos y vitaminas, en especial vitamina A; sus frutos son comestibles y de sus semillas se obtienen aceites igualmente comestibles y también como lubricante de buena calidad ⁽⁵⁾.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Las investigaciones derivadas de plantas medicinales ocupan un lugar importante en el campo farmacéutico por contribuir al tratamiento de diversas dolencias y servir de sustrato para la producción de nuevos fármacos y fitofármacos, entre los que destaca el tratamiento de la inflamación. La inflamación es debido a la respuesta del organismo ante estímulos nocivos; como traumas físicos, agentes irritantes, patógenos o células dañadas ⁽⁶⁾. La inflamación suele ser sustrato morfo patológico de diversas enfermedades y constituye un sector importante en la investigación farmacológica, además el tratamiento de procesos inflamatorios tiene un gasto importante que suele afectar a la economía de las personas ⁽⁷⁾. El hombre, durante miles de años ha usado diversas especies vegetales para tratar estados patológicos, como es el caso de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa). Desde hace milenios, prácticamente todas las partes de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), han sido utilizadas por el hombre. Las hojas, las flores, los frutos y las raíces son apreciados por su valor nutritivo y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en la animal. Las hojas son excepcionalmente ricas en vitaminas y diferentes aminoácidos, por lo que se recomiendan para tratar problemas de malnutrición en niños ⁽⁸⁾. *Moringa oleifera* Lam (Moringa), árbol perteneciente a la familia Moringaceae, es nativo de las estribaciones meridionales del Himalaya y en la actualidad se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo. Puede crecer en condiciones de escasez de agua, pero su cultivo intensivo, con irrigación y fertilización, aumenta los rendimientos de biomasa hasta superar las 100 toneladas por hectárea ⁽⁹⁾. La carragenina se suele emplear para inducir edema en animales de experimentación para evaluar efectos

antiinflamatorios de diversas moléculas, como es en nuestro caso de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

La importancia de este estudio, es contribuir al mejor conocimiento de las propiedades terapéuticas de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa), en especial de sus hojas sobre el tratamiento de la inflamación y a la vez brindar nuevas alternativas mediante la fitoterapia a las personas que padecen problemas en la salud relacionadas a inflamación aguda (edema) siendo un buen tratamiento frente a los esquemas actuales con antiinflamatorios convencionales (AINEs.) ya que presentan efectos secundarios con su consumo.

1.2. Problemas

1.2.1. Problema general:

¿Cuál es el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas albinas inducidas a inflamación aguda?

1.2.2. Problemas específicos:

1. ¿Cuáles son los principales grupos de constituyentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda?
2. ¿Cuál es la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) con mayor actividad antiinflamatoria en ratas inducidas a inflamación aguda?
3. ¿Cuál es el porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en ratas albinas inducidas a inflamación aguda?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general:

Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.

1.3.2. Objetivos específicos:

1. Determinar los posibles metabolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda.
2. Determinar la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) que presentará mayor actividad antiinflamatoria en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.
3. Determinar el porcentaje de la eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.

1.4. Justificación

El manejo del tratamiento de la inflamación aguda del edema plantar es motivo de interés en el campo farmacéutico para el uso de antiinflamatorios (AINES). Durante muchos años se han probado diferentes alternativas para tratar los cuadros de inflamación que se presentan en la enfermedad del edema plantar abarcando tratamientos de fármacos, quirúrgicos, fisioterápicos, aplicación de hielo, plantillas, entre otros; los tratamientos farmacológicos han demostrado mayor efectividad terapéutica. Investigar el empleo de productos naturales alternativos en el tratamiento de inflamación de edema plantar, nos permitirá recurrir al uso de nuevas alternativas y protocolos de atención que no presenten las desventajas de los actuales y reconocidos tratamientos, aspecto de gran trascendencia e importancia no sólo para los pacientes sino también para el equipo del personal de salud, en la medida en que resulte y se pueda establecer nuevas medidas de tratamiento que permitan el manejo, cuidado y curación de la enfermedad, previniendo al organismo efectos posterior a su uso y originales de la medicina convencional, permitiendo de ésta manera al profesional ampliar su conocimiento terapéutico para el tratamiento de esta patología.

El poco estudio del uso de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) como alternativa terapéutica para el manejo de la inflamación del edema plantar nos da una ventaja abismal al permitir a los profesionales químicos farmacéuticos investigar el campo fitoquímico y participar directamente en procedimientos y tratamiento con carácter clínico en los pacientes que padecen este problema de salud. En este aspecto, las moléculas obtenidas a partir de plantas medicinales conllevan interés a la población por sus escasos efectos adversos y su accesibilidad. ⁽¹⁰⁾.

Asimismo al demostrar su propiedad terapéutica se orientará su producción con fines terapéuticos por el cual serán beneficiadas las personas que

padezcan de enfermedades inflamatorias a la vez los productores y comercializadores de la moringa.

Desde el punto de vista industrial, en la actualidad, la industria farmacéutica busca nuevos descubrimientos e investigaciones en plantas con propiedades antiinflamatorias para producir fármacos para el tratamiento de diferentes formas de inflamación pero debido a sus características biofarmacéuticas, estabilidad y toxicidad, su aplicación en terapéutica es muy limitada y compleja. Dentro de estas tecnologías se destaca el empleo de alternativas medicinales con los fitofármacos y metabolitos de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa). Debido a las propiedades benéficas para mejorar la salud, la moringa se emplea como complemento nutricional y preventivo de varias enfermedades siendo una de ellas la inflamación de edema plantar.

Desde el punto de vista de su aplicación, los farmacéuticos investigadores buscan nuevas alternativas de desarrollo con la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) que impliquen una dosificación controlada para lograr el correcto efecto terapéutico y reducir el grado de toxicidad con una dosis adecuada en las personas que realizan el consumo de esta planta medicinal. En la investigación realizada el objetivo fue identificar el efecto antiinflamatorio de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) y contribuir en la elaboración de una dosis óptima para evaluar su eficacia terapéutica como antiinflamatorio de edema plantar inducido experimentalmente en ratas albinas. En cualquier caso, la demostración de su toxicidad y mecanismo de la acción en sí, necesitará la realización de nuevas investigaciones y ensayos farmacológicos experimentales que se pueden hacer a partir del principio activo encontrado. Desde el punto de vista económico y social, tener una alta posibilidad de lanzamiento e ingreso al mercado farmacéutico para beneficiar a los pacientes que padecen enfermedades inflamatorias crónicas, pues con una dosis correcta se logrará un efecto terapéutico y así disminuir los costos de los tratamientos múltiples con los fármacos convencionales.

Desde el punto de vista científico, los resultados de investigación son de mucha importancia e interés para las futuras generaciones de farmacéuticos, se sugiere realizar más estudios de las propiedades y metabolitos encontrados en las hojas y demás partes de la planta de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) y de esta forma poder ser aplicados para la prevención y el tratamiento otros tipos de enfermedades, así mismo para la producción de nuevas formas farmacéuticas.

1.5. Limitaciones metodológicas

Al ejecutar la presente investigación se evidenciarán limitaciones que se circunscriben como las propiedades de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en seres humanos no cuenta con evidencia apoyada en pruebas clínicas aleatorizadas y controladas con placebo y tampoco hay publicaciones en las revistas científicas. Así mismo habrán limitaciones en cuanto a la evaluación de las muestras de los animales de experimentación que participen del estudio, ya que esta solo se podrá llevar a cabo de manera experimental, prospectivo, longitudinal, no siendo posible realizar análisis de carácter histológico ni genético, lo cual mejoraría sustancialmente la investigación. También limitaciones técnicas que determinan es el aislamiento y la caracterización de la estructura de estas moléculas, pues pueden ser dañadas durante la manipulación. Otra de las limitaciones son los climas helados que son adversos a su producción, muere la parte aérea de la planta pero rebrota en primavera (la planta es letal frente a clima menor a -4 °C). En las limitaciones de climas tropicales puede resistir sequía hasta 6 meses, en verano requiere de riego periódico. Otra de estas limitaciones están las características es que no es exigente en fertilidad, soportan aguas salobres y suelos que oscilan de pH entre 4,5 a 9,0⁽¹⁸⁾.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos

2.1.1. Antecedentes nacionales

Anticona M. ⁽¹¹⁾ **(2017)** efectuaron el estudio “Caracterización fisicoquímica de la *Moringa oleifera* Lam”. En su estudio determinaron el porcentaje de humedad, ceniza, fibra, proteína, pH. Hallaron que en las hojas tuvo 76,98% de humedad, 2,56% de fibra, 1,60% de ceniza y 9,07% de proteínas; así mismo en la corteza hallaron humedad 72,88%, 1,83% de fibra, 13,61% de proteína y ceniza 1,13%. Los valores de pH fueron 5,807 para la corteza, 6,215 para las hojas y 5,439 para los frutos frescos. Concluyen que es un producto importante para la salud y usos industriales.

Chepote, G. et al. ⁽¹²⁾ **(2012)**, en su estudio “*Moringa oleifera* Lam, es muy valorada, distribuida en muchos países de los trópicos y subtrópicos”. Esta especie vegetal tiene usos medicinales importantes y con alto valor nutricional. Entre sus componentes se contiene minerales, buena fuente de vitaminas, proteínas, β - caroteno, aminoácidos y diferentes compuestos fenólicos. Además contiene quercetina, zeatina, β - sitosterol, ácido cafeicoquinico y kaempferol. Además se le atribuye como purificador de agua y alto valor nutricional y medicinal.

Zaa, C. et al. ⁽¹³⁾ **(2012)** efectuaron el estudio “efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria allicea*”. Nos dice que, para evaluar el efecto antiinflamatorio usaron la carragenina en solución al 1% para inducir edema en ratones en la parte sub plantar y en ratas bolsa de aire subcutánea. Hallaron disminución máxima del edema en 23,26% a las cuatro horas de tratamiento. En la inflamación a largo plazo hallaron disminución del 25,9% y 29,5% del peso y volumen del exudado y disminución del 24% de peso de tejido fibroso, por el cual concluyen que la especie vegetal en estudio tiene efecto antiinflamatorio.

2.1.2. Antecedentes extranjeros

Coz, X. et al. ⁽¹⁴⁾ **(2018)** realizaron el estudio “Infusión de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), rica en compuestos fenólicos y alta capacidad antioxidante que atenúa el óxido nítrico mediador pro inflamatorio in vitro”. Determinaron el efecto inhibidor del óxido nítrico (NO) de la infusión de moringa en una línea celular de macrófago de ratón RAW264. Determinaron los fenoles solubles totales, los flavonoides totales y los contenidos fenólicos simples y la capacidad antioxidante de la infusión y decocción acuosa de moringa con el fin de seleccionar la mejor muestra para el ensayo inhibidor de NO. El efecto inhibidor de NO de la infusión de moringa fue dependiente de la dosis y casi similar al control positivo (Dexametasona). Una taza de la infusión de moringa contenía 70,2 mg de fenoles solubles totales y 30,5 mg de flavonoides totales. El ácido gálico y la rutina fueron los principales fenólicos simples detectados. La eficiencia de extracción de ácido gálico y rutina de las hojas de moringa por decocción e infusión fue de 54.1 a 66.2% y de 39.6 a 52.4%, respectivamente. Este es el primer informe sobre el contenido de compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante y el

efecto inhibitor de NO de la infusión acuosa de moringa que comúnmente se consume en todo el mundo.

Idoga, E. et al. ⁽¹⁵⁾ (2018) realizaron el estudio “Evaluación de las actividades antioxidantes y neuroprotectoras del extracto de metanol de *Moringa oleifera* Lam (Moringa). Hojas en ratas subcrónicas clorpirifos intoxicadas”. Nos dicen que, evaluaron los efectos antioxidantes y neuroprotectores del extracto metanólico de hojas de *Moringa oleifera* (MO) en ratas Wistar intoxicadas con clorpirifos subcrónicos (CPF), usaron en seis grupos de cinco animales cada uno. El Grupo I recibió agua destilada (2 mL/kg); grupo II, aceite de soja (2 mL/kg); grupo III, MO (500 mg/Kg); y grupo IV, CPF (9.8 mg/Kg). Los grupos V y VI se pretrataron con MO (250 mg/Kg y 500 mg/Kg, respectivamente), 30 minutos antes de la administración de CPF (9,8 mg/Kg). La administración de los tratamiento fue una vez al día durante 9 semanas. Las ratas se sacrificaron y obtuvieron muestras de tejidos cerebrales para evaluar la acetilcolinesterasa (AChE), el superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPX), actividades de la catalasa (CAT), y la concentración de malondialdehído, además realizaron examen histológico. En el cerebro del grupo CPF, la concentración de malondialdehído aumentó, mientras que las actividades de SOD, GPx, CAT y AChE disminuyeron con la degeneración neuronal, lo que indica estrés oxidativo. El extracto de MO mitigó daños oxidativos inducidos por CPF. Concluyen que el pre tratamiento de MO redujo los daños oxidativos cerebrales en ratas expuestas de forma crónica a CPF.

Igado, O. et al. ⁽¹⁶⁾ (2018) realizaron el estudio “aislamiento de un nuevo compuesto (MIMO2) a partir del extracto metanólico de hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa): efectos protectores contra la citotoxicidad inducida por vanadio”. Nos dicen que, el extracto metanólico de hojas de *Moringa oleifera* fue fraccionada con sistema

líquido-líquido, cromatografía en columna y cromatografía líquida preparativa de alta resolución (HPLC). El fraccionamiento por bioensayo con el uso del poder antioxidante reductor férrico (FRAP) se usó para determinar la fracción con mayor poder antioxidante. Elucidaron la estructura química con espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN). Reportan que el compuesto puro, butil p-hidroxifenil-acetato (MIMO2) exhibió una actividad antioxidante más alta que TEMPOL (control positivo). El vanadio es un metal que, como sal, ha demostrado ser un neurotóxico y por lo tanto, se usó para evaluar la eficacia de MIMO2 en este experimento. Usaron células HT22 (hipocampo de ratón inmortalizado) para cultivo celular. El ensayo Cometa mostró una reducción estadísticamente significativa ($p < .05$) en el daño al ADN cuando se usaron 0,25 y 0,5 μM de MIMO2, así como 0,1 y 0,2 mg del extracto metanólico de hojas de *Moringa oleifera* Lam (MO) en combinación con 200 μM de vanadio (metavanadato de sodio). Observaron una formación reducida de superóxido usando tinción con dihidroetidio (2,7-Diamino-10-etil-9-fenil-9,10-dihidrofenantridina-DHE) después de que se usó MIMO2 0,5 μM y MO 0,063 en combinación con vanadio 100 μM . MIMO2 y MO mostró un efecto protector estadísticamente significativo ($p < .05$) contra la toxicidad de vanadio en las células neuronales.

Omotoso, G. et al. ⁽¹⁷⁾ **(2018)** realizaron el estudio “Efectos benéficos de la moringa en la disminución de la memoria inducida por cuprizona en un modelo de esclerosis en ratas. Manifiestan que, la cuprizona es una neurotoxina con capacidad quelante de cobre utilizada en modelos animales de esclerosis múltiple en la que el estrés oxidativo se ha documentado como una de las causas de la patogénesis. *Moringa oleifera* Lam (Moringa) es una planta fitomédica con propiedades antioxidantes y neuroprotectoras. Evaluaron la capacidad de mejora de *Moringa oleifera* en alteraciones conductuales e histopatológicas inducidas por cuprizona en la corteza prefrontal y el

hipocampo de ratas Wistar. Cuatro grupos de ratas fueron tratados con solución salina normal, cuprizona, *M. oleifera* y una combinación de *M. oleifera* y cuprizona, durante cinco semanas. Las ratas se sometieron a un laberinto de agua de Morris y un laberinto en Y para evaluar la memoria a largo y corto plazo, respectivamente. Los animales se sacrificaron y los tejidos cerebrales se eliminaron para el ensayo inmunoabsorbente histoquímico y de lisado enzimático para catalasa, superóxido dismutasa y óxido nítrico. La cuprizona induce significativamente el estrés oxidativo junto con la disminución de la memoria y los déficits neuronales cortico-hipocámpicos; sin embargo, la administración de *M. oleifera* revirtió significativamente los déficits neuropatológicos inducidos por la cuprizona.

2.2. Bases teóricas y /o legales

2.2.1. *Moringa oleifera* Lam (Moringa)

a. Clasificación taxonómica

La *Moringa oleifera* Lam (Moringa), se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Dilleniidae
Orden	: Capparales
Familia	: Moringaceae
Género	: Moringa
Especie	: <i>Moringa oleifera</i> Lam

b. Descripción de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa)

La *Moringa oleifera* Lam (Moringa), es una especie que puede crecer entre 5 a 10 metros de altura, tiempo de vida hasta 20 años, es de crecimiento rápido, en 6 meses puede alcanzar hasta 4 metros, su floración es permanente. Son flores son bisexuales, pétalos color blanco, estambres de color amarillo y perfumados. Sus frutos pueden medir de 20 a 40 cm de largo, pueden contener de 12 a 25 semillas cada fruto, al año suelen producir dos cosechas en climas trópicos secos y lluvias bimodal. Puede vivir en climas diversos, el promedio de temperatura al año es de 18,7 °C, las temperaturas entre 25 y 35 °C es óptimo para su crecimiento.

Los climas helados son adversos a su producción, muere su parte aérea pero rebrota en primavera. La planta es letal frente a clima menor a -4 °C. En climas tropicales puede resistir sequia hasta 6 meses, en verano requiere de riego periódico. Otra de las características es que no es exigente en fertilidad, soportan aguas salobres y suelos que oscilan de pH entre 4,5 a 9,0 ⁽¹⁸⁾.



Figura 1. Planta de *Moringa oleifera* (Moringa).

Fuente. Godino M. ⁽¹⁸⁾

c. Composición y usos medicinales de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa)

Las hojas tienen un alto valor nutritivo, contiene mayor a 27% de proteínas, todos los aminoácidos esenciales, además beta carotenos, minerales, riboflavina y otras vitaminas como B, C y A. Se ha establecido que su contenido de vitamina C supera en siete veces a la naranja, en vitamina A supera a la zanahoria en cuatro veces, mayor contenido de potasio que el plátano y supera en hierro a la espinaca en 0,75 veces. Se puede consumir en forma fresca, en infusiones, en preparados como en cápsulas o en forma seca. Su consumo puede ser útil como alimento para personas que padecen de diabetes mellitus, hipertensión arterial, colesterol alto o en casos de artritis. Las semillas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), son comestibles y contiene de 33 a

41% de aceite, además contienen polielectrolitos que se obtienen luego del prensado de las semillas, el cual suele usarse como alimento para ganado y como abono su alto contenido en nitrógeno ⁽¹⁸⁾.

En la figura 2 se aprecia algunas estructuras de la *Moringa oleifera* (Moringa), entre las que destacan ⁽¹⁹⁾:

A: 4-(4` - O.acetil-alfa-L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato

B: 4-(-L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato

C: Niacimicina

D: Pterigospermina

E: Bencil isotiocianato

F: 4-(alfa-L-ramnopiranosiloxi) bencil glucosinolato

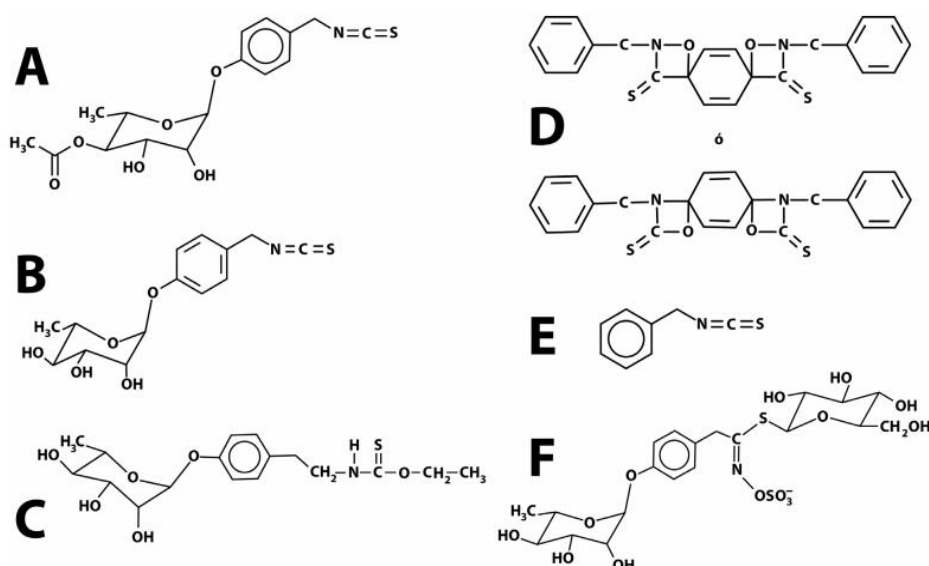


Figura 2. Estructura fitoquímica de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

A: 4-(4` - O-acetil-alfa-L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato. **B:** 4-(-L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato. **C:** Niacimicina (niazimicin). **D:** Pterigospermina. **E:** Bencil isotiocianato. **F:** 4-(alfa-Lramnopiranosiloxi) bencil glucosinolato

Fuente. Olson M. ⁽¹⁹⁾

2.2.2. Inflamación

La inflamación es considerada como una respuesta defensiva, fisiológica natural de los organismos frente a injurias biológicas, físicas o químicas y se caracteriza por presentar signos como edema, dolor, rubor y calor ⁽²⁰⁾. Esta respuesta tiene por finalidad atenuar, destruir y localizar al agente causante de la injuria y a la vez iniciar una serie de eventos bioquímicos como medida de protección al organismo ⁽²¹⁾. En la figura 3, se observa los principales mediadores químicos que participan en le respuesta inflamatoria, entre los que destacan: La histamina, bradicinina, prostaglandinas, leucotrienos, metabolitos del oxígeno, interleucinas y productos del complemento.

Mediador químico	Acción
Histamina y serotonina (aminas vasoactivas)	Incremento de la permeabilidad
Bradicinina	Incremento de la permeabilidad y dolor
C3a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad opsonina
C5a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Prostaglandinas (metabolitos del ácido araquidónico)	Vasodilatación, dolor, fiebre, activa a otros mediadores
Leucotrieno B ₄ (metabolito del ácido araquidónico)	Quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Leucotrieno C ₄ , D ₄ , E ₄ (metabolitos del ácido araquidónico)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, vasoconstricción
Metabolitos del oxígeno (radicales libres)	Incremento de la permeabilidad, lesión endotelial y tisular
Factor activador de plaquetas (PAF)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, cebado de leucocitos
Interleucina-1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral (TNF) (citocinas)	Reacciones de fase aguda, activación endotelial, quimiotaxis
Óxido nítrico	Incremento de la permeabilidad, vasodilatación, citotoxicidad

Figura 3. Mediadores químicos del proceso inflamatorio.

Fuente. León M. ⁽²¹⁾.

2.2.3. Prostaglandinas

Las prostaglandinas son compuestos sintetizados a partir del ácido araquidónico (AA), el AA es liberado de los fosfolípidos de membranas por acción de la fosfolipasa A2 (PLA₂) o fosfolipasa C (PLC), luego es metabolizado por tres principales vías: ciclooxigenasa (COX), lipooxigenasa y citocromo P450. La ciclooxigenasa cataliza la biosíntesis de prostanoides, La COX actúa sobre AA para producir prostaglandinas G2 (PGG₂), este es hidrolizado por la hidroxidasa (HOX) para producir prostaglandinas H2 (PGH₂). A partir de PGH₂ se produce por acción de isomerasas y oxidoreductasas diversos compuestos de prostaglandinas (PGD₂, PGE₂, PGF₂), tromboxanos (TXA₂) y prostaciclina (PGI₂) las cuales tienen diversas acciones biológicas ⁽²²⁾.

PGF₂ : Acción en la contracción uterina.

PGI₂ : Disminuye la agregación plaquetaria, estimula la vasodilatación.

TXA₂ : Estimula la agregación plaquetaria, broncoconstricción y vasoconstricción.

PGE₂ : Participa en la tonicidad vascular y bronquial, fertilidad, agregación plaquetaria, inflamación, ovulación, cáncer, respuesta inmune.

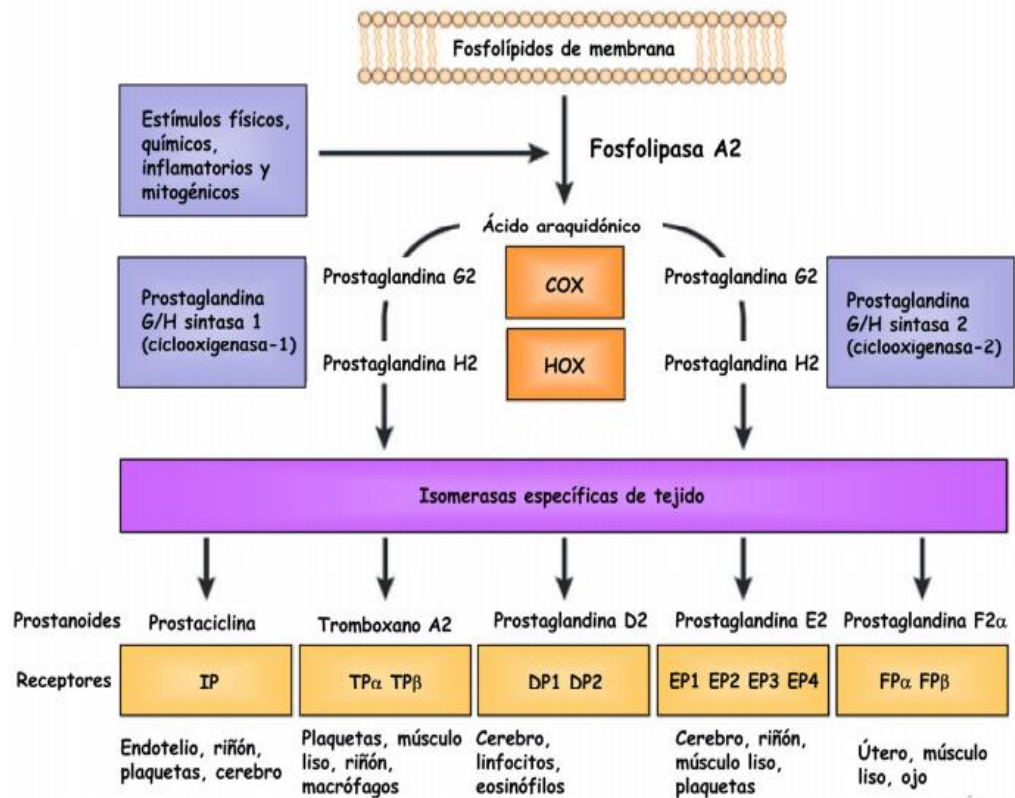


Figura 4. Síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina a partir del ácido araquidónico.

Fuente. Motiño O. ⁽²²⁾.

2.2.4. Terapéutica de la inflamación

El grupo de fármaco de mayor uso para el tratamiento del dolor son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Ente este grupo tenemos a los inhibidores selectivos de la ciclooxigenas-2 como: Celecoxib, nimesulida, etodolac, etoricoxib. Tenemos otros AINEs que inhiben a las ciclooxigenasas: ácido acetil salicílico, paracetamol, indometacina, sulindac, ácido mefenámico, ketorolaco, diclofenaco, ibuprofeno, meloxicam, nabumetona, fenilbutazona. Los AINEs también poseen efecto analgésico y antipirético en mayor o menor grado, como ejemplo el ibuprofeno o ketorolaco tienen mayor efecto analgésico que antiinflamatorio. El ácido acetil salicílico también está indicado como antitrombótico o antiagregante plaquetario por su acción específica sobre la COX-1 impidiendo la producción de TXA2 en las plaquetas ⁽⁷⁾. Los efectos adversos que presentan los fármacos antiinflamatorios se aprecian en forma general en la figura 5.

-
- Anorexia, náuseas, vómitos
 - Pirosis, distensión abdominal
 - Dolor abdominal
 - Ulceraciones en tracto digestivo
 - Hemorragia oculta o masiva
 - Perforación
 - Diarrea, esteatorrea
 - Antiagregación plaquetaria
 - Ictericia
 - Cefalea, mareos, vértigo, tinnitus
 - Obnubilación, confusión mental, angustia, ansiedad, depresión, insomnio
 - Alucinaciones, psicosis
 - Erupciones cutáneas
 - Neutropenia, trombopenia, anemia aplástica, anemia autoinmune
 - Inhibición de la excreción de litio
 - Retención de agua y sodio
 - Disminución de los efectos hipotensores de los β -bloqueadores y diuréticos
 - Hipertensión
-

Figura 5. Efectos adversos de los fármacos AINES

Fuente. Espinós D. ⁽⁷⁾.

Tabla 1. Antiinflamatorios no esteroideos clasificado según estructura química.

Grupo terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
Pirazolonas	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
Arilacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Acido mefenámico, meclofenamato
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Fuente. Espinós D ⁽¹⁷⁾.

Tabla 2. Antiinflamatorios no esteroideos clasificado según vida media plasmática

Analgésicos	Vida media corta (< 6 horas)	Vida media larga (> 6 horas)
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, acetilato de lisina	Diflunisal, fosfosal
Pirazolonas	--	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín	Sulindaco
Arilacéticos	Diclofenaco,	Aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno	Naproxeno
Oxicams y análogos	--	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Inhibidores selectivos de la COX-2	--	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Fuente. Espinós D ⁽¹⁷⁾.

2.2.5. Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica se realiza para determinar los diversos componentes químicos en las plantas, se basa en extraer pequeñas cantidades de la planta con solventes adecuados y aplicación de ensayos de coloración y precipitación ⁽²³⁾.

2.2.6. Principales constituyentes químicos de las plantas

1. Alcaloide

Es el grupo de constituyentes químicos más grande de las plantas, se pueden encontrar en raíces, semillas, cortezas, hojas, se encuentran al estado libre o en forma de glicósidos. En su estructura contienen átomos de nitrógeno como parte de un sistema cíclico y que presentan propiedades farmacológicas, se han sintetizados a partir de aminoácidos. Derivan principalmente de los aminoácidos ornitina, lisina, tirosina, triptófano y del ácido antranílico. Se clasifican en base a los esqueletos estructurales de los aminoácidos ⁽²³⁾:

- Ornitina: alcaloides pirrolidínicos, pirrolizidínicos, alcaloides del tropano.
- Lisina: alcaloides indolizidínicos, quinilizidínicos, piperidínicos.
- Fenilalanina o tirosina: alcaloide isoquinolínico, fenietilaminas.
- Triptófano: alcaloides indólicos, beta carbolínicos.
- Ácido antranílico: alcaloide quinolínicos, quinazolínicos, acridínicos.

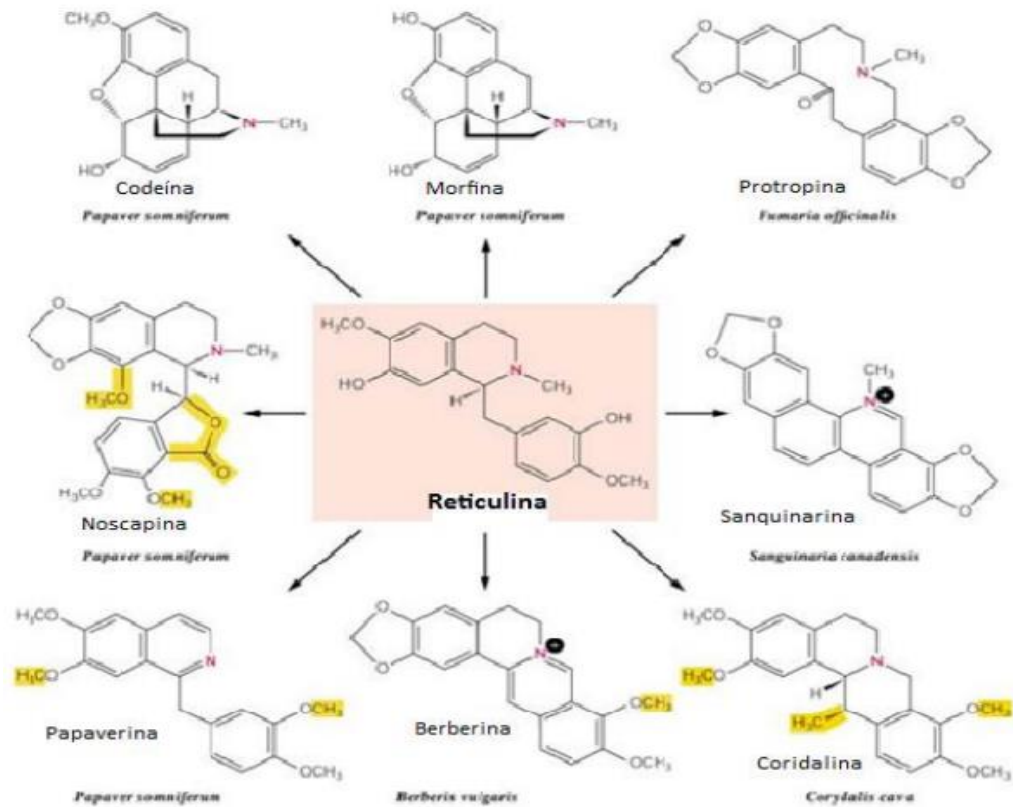


Figura 6. Esquema general de biosíntesis de los alcaloides.
Fuente. Ávalos et al. 2009 ⁽²⁴⁾.

2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se refieren al grupo de compuestos que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, se ubican con frecuencia como glicósidos. Relativamente son compuestos polares y suelen ser solubles en agua. Por su naturaleza aromática presentan intensa absorción en la región UV del espectro ⁽²³⁾.

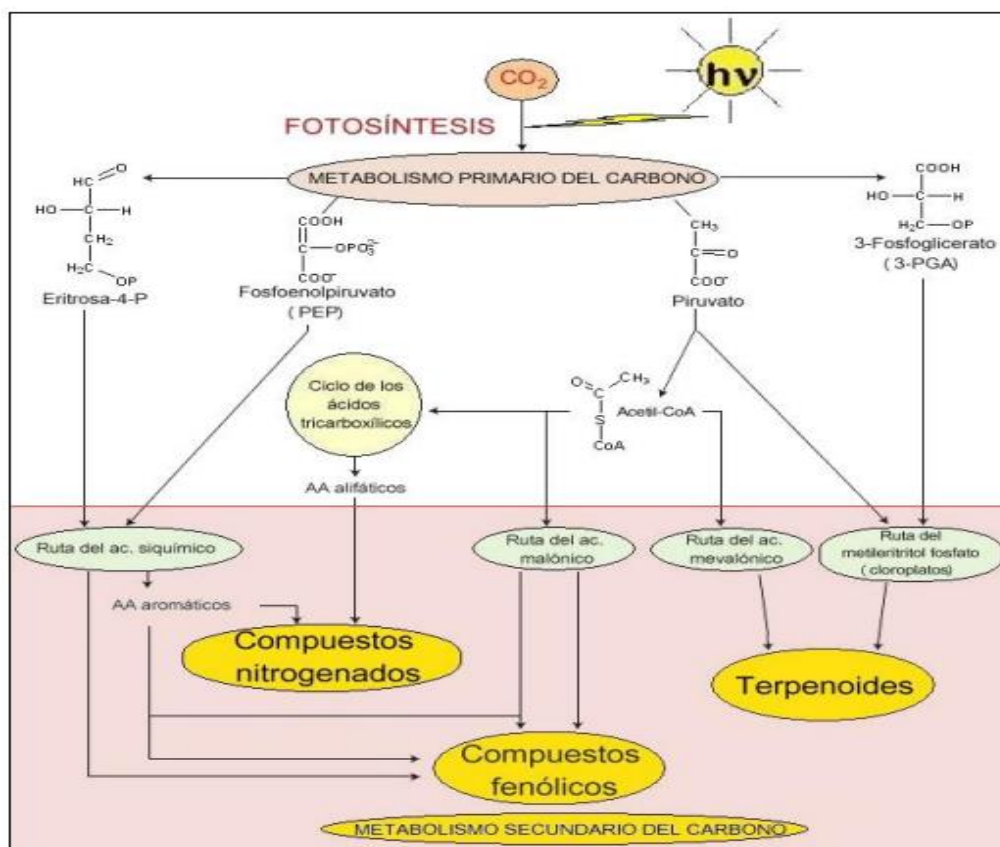


Figura 7. Rutas biosintética de compuestos fenólicos.

Fuente. Ávalos et al. 2009 ⁽²⁴⁾.

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en las plantas, se encuentran habitualmente bajo la forma de glicósido con uno o tres unidades de azúcar, por lo general enlazados a los carbonos 3 y/o 7, los azúcares más comunes son la glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa. Dentro los tipos más comunes son las flavonas y flavonoles y menos frecuentes las isoflavonas, chalconas y auronas. Los flavonoides son solubles en agua y etanol, se forman por medio de la ruta del shikimato y del acetato malonato, el que forma al inicio es la chalcona, luego de ésta se derivan otras clases de flavonoides que se dan en varias etapas. A los flavonoides se le confiere propiedades biológicas como antiviral, antiosteoporótico, antiúlcero, antiinflamatorio, antihepatotóxico, además potentes antioxidantes. También se ha

señalado que inhiben algunas enzimas como la aldosa reductasa, xantina oxidasa, ciclooxigenasa, lipooxigenasa. Así mismo puede usarse para problemas cardiovasculares, antialérgicos, anticancerígenas, antimicrobianas, antiparasitario, antifúngico ⁽²³⁾.

3. Sesquiterpenos

Se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, se han identificado más de 300 esqueletos distintos, debido a que los 15 carbonos pueden encontrarse en forma lineal y dando lugar a los pocos terpenos acíclicos a que puedan formando ciclos. Tenemos algunos sesquiterpenolactonas bases ⁽²³⁾:

- Acíclicos: serie farnesano
- Monocíclicos: serie busabolano, germacrano, elemano, zingibirano
- Bicíclicos: serie eudesmano, cadinano, guayano, carotano
- Tricíclicos: serie cedrano, hirsutano, ciperano, cucumano

4. Taninos

Pertenecen al grupo de compuestos fenólicos, presentan solubilidad en agua, su peso molecular se encuentra entre 500-3000, tienen propiedad de precipitar a las proteínas, alcaloides y la gelatina. Tiene la propiedad de ser astringente, antioxidante, propiedad que suele aprovecharse en la industria de alimentos y farmacéutico ⁽²⁴⁾.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) tiene efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.

2.3.2. Hipótesis específicas:

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) tiene grupos constituyentes activos responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.
2. Las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) de 200 mg/kg, 300mg/kg y 500mg/kg presentan una concentración óptima con mayor actividad antiinflamatoria en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) presenta mayor porcentaje de eficacia antiinflamatoria frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda.

2.4. Definición de términos básicos

Histamina. Compuesto químico liberado por los mastocitos y que participan en reacciones alérgicas en el organismo.

Interleucinas. Son compuestos de naturaleza proteica producidos por los leucocitos, linfocitos CD4 y tienen como función de servir de mensajero

entre las diferentes poblaciones leucocitarias y participa en la respuesta inmunitaria.

Prostaglandinas. Compuestos químicos de carácter lipídico, regulan funciones como la presión arterial, coagulación, respuesta alérgica e inflamatoria.

Citoquinas. Son compuestos de naturaleza proteica, regulan la función celular y responsables de comunicación entre las células, estimulan receptores específicos en la membrana, modulan la secreción de inmunoglobulinas.

Alcaloides: Son compuestos nitrogenados de estructura química variada y poseen propiedades terapéuticas y tóxicas dependiendo de su naturaleza y dosis.

Ciclooxigenasa. Son enzimas que permiten o catalizan la producción de prostaglandinas en el organismo a partir del ácido araquidónico.

Antioxidantes: Compuestos químicos o biológicos que atenúan directa o indirectamente los efectos nocivos de agentes oxidantes como es el caso de la oxidación de proteínas, lípidos, y ácidos nucleicos.

Tóxico. Sustancia química que puede causar la muerte u ocasionar graves daños al organismo.

Enfermedad. Todo aquello que modifica la armonía de un organismo a nivel celular, molecular, mental, emocional alterando la salud y/o conducta de la persona.

Catalasa. Enzima con propiedades antioxidantes, cataliza la formación de agua y oxígeno a partir del peróxido de hidrógeno.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El estudio pertenece al nivel de la investigación en ciencias aplicadas como es el de las ciencias farmacéuticas y bioquímica; experimental, prospectivo y longitudinal. Asume un diseño experimental porque se trabaja con un grupo control, se manipula la variable independiente para lograr efecto en la variable dependiente Prospectivo porque se realiza el estudio del presente al futuro y longitudinal porque se realizará varias medidas.

3.2. Población y muestra

La población estuvo conformada por la planta de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), del departamento de Piura, provincia de Piura, distrito 26 de Octubre y la muestra fue 1kg de hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

La población estuvo conformada por ratas albinas cepa Holtzmann, obtenidas del Instituto Nacional de Salud de Lima.

La muestra correspondió a 36 ratas albinas cepa Holtzmann las cuales fueron divididas en 6 grupos de tratamiento e inducidas a inflamación aguda con carragenina® 2% para edema plantar a la rata. Para su determinación, se aplicó el muestreo no estadístico de tipo intencional.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

a. Equipos:

Balanza semi analítica marca Sartorius

Balanza analítica marca Sartorius

Balanza triple brazo

Plato calefactor

Estufa marca Memmert

Campana extractora

Pletismómetro manual.

b. Materiales:

Beacker de vidrio de 50 mL, 100 mL y 250 mL

Algodón CKF 200 g

Gasa Médica 20 x 20 cm

Papel de filtro whatman N° 4

Bagueta de vidrio

Gotero de plástico

Frasco de vidrio color ámbar de 1 L

Fuente de vidrio Pyrex

Guantes de látex descartable

Mascarilla descartable

Gorro descartable

Pipeta de vidrio 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL

Pro pipeta de goma

Mortero y pilón de porcelana

Espátula de metal

Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 mL

Probeta de 100 mL

Cocinilla eléctrica

Sonda orogástrica para ratas

Jaula de metal para ratas

Jeringa de insulina graduada 1 mL Terumo.

c. Reactivos:

Acetato de etilo

Agua destilada

Benceno

Cloroformo

Etanol

n-butanol

Metanol

Mayer

Dragendorff

Tricloruro férrico

Gelatina más cloruro de sodio

Fehling A y Fehling B

Tricloruro de aluminio

Shinoda

Ninhidrina

Liebermann – Burchard

Ibuprofeno (dilución)

Dexametasona (dilución)

Carragenina

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

3.4. Procedimientos

A. Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) (CYTED 1995 (25)):

Se usó las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) procedentes de la ciudad de Piura, departamento de Piura, ubicado a 2709 msnm, las hojas se colectaron en primavera, mes setiembre 2018, con 8 meses de edad de la planta, se recolectó 1 Kg de hojas y se trasladó al laboratorio de la

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Luego se procedió a la selección (hojas enteras en buen estado de conservación), limpieza (se separó el polvo con escobilla pequeña, evitando dañar las hojas) y desinfección (hipoclorito de sodio al 1%), luego se secó a la estufa a 40 °C, luego se pulverizó y se cogió 200g de polvo de hoja seca el cual se maceró en 1 L de etanol 70 % en frasco color ámbar herméticamente cerrado por 10 días con agitación diaria cada 12 horas, transcurrido este tiempo se filtró, primero con gasa luego con papel de filtro N° 4, el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco, el extracto obtenido se pesó 100 g, luego se almacenó en frasco color ámbar y se colocó a refrigeración hasta posterior uso.

B. Prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico (Lock O. (23) 2016):

Prueba de solubilidad

Se tomó una pequeña muestra (5 mg) de extracto seco, para observar la solubilidad se adicionó 1 mL de los siguientes reactivos de diferente polaridad: Agua, etanol, metanol, n-butanol, acetato de etilo, cloroformo, benceno.

Tamizaje fitoquímico

Se tomó aproximadamente 30 mg de extracto seco, se solubilizó con solvente adecuado, luego se agregaron 5 gotas de los reactivos siguientes:

Mayer, Dragendorf	: Alcaloides
Tricloruro de aluminio, Shinoda:	Flavonoides
Tricloruro férrico 1 %	: Compuestos fenólicos y/o taninos
Gelatina más cloruro de sodio	: Taninos
Liebermann – Burchard	: Esteroides y/o triterpenoides
Fehling A y Fehling B	: Azúcares reductores
Ninhidrina	: Grupo amino libre.

1. Ensayos para alcaloides

- Reactivo de Wagner (yodo – yoduro de potasio): Es positivo si presenta color marrón.
- Reactivo de Mayer (yoduro de mercurio y potasio): Positivo si presenta color blanco o crema.
- Reactivo de Dragendorff (yoduro de bismuto y potasio): Positivo si presenta color rojo o naranja.
- Reactivo de Scheibler (ácido fosfortungstico): Positivo si presenta color blanco.
- Reactivo de Sonneschein (ácido fosfomolibdico): Positivo si presenta color naranja.

2. Ensayo para flavonoides y compuestos fenólicos

- Reactivo de Shinoda (limaduras de magnesio más HCl concentrado): Positivo si presenta color amarillo o rojo (flavonas y flavonoles), rojo o magenta (flavonoles), rojo, violeta o azul (flavononas), amarillo (isoflavonas).
- Reactivo Cloruro Férrico (cloruro férrico disuelto en agua): Positivo si presenta color azul, verde o negro.
- Reactivo de gelatina al 1% (gelatina más NaCl): Positivo si presenta precipitado blanco, es prueba para taninos.
- Reactivo de Bortranger (NaOH al 5%): Positivo si presenta color rojo, identifica antraquinonas y naftoquinonas.

3. Ensayo para Cumarinas

El ensayo es para cumarinas volátiles, se añade a la muestra 1 mL de etanol en tubo de ensayo, se cierra con papel de filtro, seguido se embebe con NaOH al 10%, se coloca a baño maría. El papel de filtro se observa a luz UV 254, es positivo si presenta azul brillante.

4. Ensayo para antraquinonas

A la muestra se añade 5 mL de cloroformo, se agita vigorosamente, luego se decanta, se añade 5 gotas de NaOH al 5%, se formará dos fases, si presenta color rojo, la reacción es positivo.

5. Ensayo para glúcidos

Se añade a la muestra 5 mL de Fehling a y B, se coloca a baño maría, si presenta color anaranjado ladrillo la reacción es positivo para glúcidos.

6. Ensayo para almidón

Se adiciona III gotas de lugol a la muestra, si presenta color oscuro es positivo.

C. Determinación del efecto antiinflamatorio (Método Arroyo et al. (26) 2012):

Animales de experimentación

Se utilizaron 36 ratas hembras albinas cepa Holtzmann, con peso promedio de 220 g adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, fueron mantenidas en ayunas 12 horas en condiciones normales de humedad (60%) y temperatura (22 – 23 °C). Se agruparon al azar en 6 grupos (n = 6): Grupo 1: Solución Salina Fisiológica 0.9% (5 mL/Kg); Grupo 2: Ibuprofeno (25 mg/Kg); Grupo 3: Dexametasona (2 mg/kg); Grupo 4: Extracto seco hidroalcohólico de hojas de moringa (200 mg/Kg); Grupo 5: Extracto seco hidroalcohólico de hojas de moringa (300 mg/Kg); Grupo 6: Extracto seco hidroalcohólico de hojas de moringa (500 mg/Kg).

Efecto antiinflamatorio

Se usó el método del edema plantar, para medir la inflamación se realizó mediante el pletismómetro manual. El edema se induce inyectando 0.1 mL de carragenina al 2% en solución salina fisiológica en la aponeurosis

plantar de la pata trasera derecha de la rata. La inflamación inducida por la carragenina, es originalmente descrita por Winter C *et al.* en 1962, ésta es aguda, no inmune, adecuadamente investigada y altamente reproducible⁽³⁶⁾.

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), los fármacos de referencia Ibuprofeno, Dexametasona y el grupo control solución salina fisiológica se administraron por vía oral haciendo uso de una sonda orogástrica 30 minutos antes de la inyección de carragenina. La inflamación se cuantificó midiendo los volúmenes normales e inflamados de la pata posterior derecha de la rata utilizando un plestismómetro manual a las 1, 3, 5 y 7 horas después de la administración del extracto.

3.5. Procesamiento de datos

Para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico SPSS versión 20. Se realizó el análisis ANOVA (para evaluar la comparación de las medias de los diferentes grupos de tratamiento), las diferencias estadísticas fueron calculados por la prueba de Tukey (para observar si hay diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento), prueba de Dunnett, el nivel de significancia fue del 95% ($p < 0.05$). Los datos fueron presentados en tablas y gráfica. La técnica empleada fue la observación directa de cada muestra en estudio. Los instrumentos empleados fueron elaborados *Ad Hoc* (es decir en especial para el diseño experimental antiinflamatorio propuesto en la metodología), los datos se recolectaron en forma manual e individual de cada animal y fueron tabulados y graficados como se aprecia en el capítulo de los resultados.

$$x = \frac{40 \text{ mg} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ mg}} = 0.8 \text{ mL del extracto hidroalcohólico de}$$

Moringa oleifera Lam (Moringa) se le administrará v.o. a cada rata.

Para lo cual se realizará una solución total de (0.8 mL x 6 = 4.8 mL) de concentración 200 mg para administrar a las 6 ratas del mismo grupo (N°4).

C) Preparación de Solución del extracto seco hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) de 300 mg/Kg :

300 mg *Moringa oleifera* —————> 1000 g peso

X —————> 200 g (peso de rata)

$$x = \frac{300 \text{ mg Moringa} \times 200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = 60 \text{ mg Moringa oleifera Lam (Moringa)}$$

100 mg —————> 2 mL ----- (dosis patrón)

60mg —————> x

$$x = \frac{60 \text{ mg} \times 1 \text{ mL}}{100 \text{ mg}} = 1.2 \text{ mL del extracto hidroalcohólico}$$

de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) se administrará v.o. a cada rata.

Para lo cual se realizará una solución total de (1.2 mL x 6 = 7.2 mL) de concentración 300 mg para administrar a cada una de las 6 ratas del mismo grupo (N° 5).

D) Preparación de la Solución de Ibuprofeno 25 mg/Kg: Laboratorios Naturales y Genéricos S.A.

En 1 tableta de Ibuprofeno de 400 mg de concentración hay 520 mg de peso.

Entonces: 520 mg (peso de la tableta) → 400 mg Ibuprofeno
X → 25 mg Ibuprofeno

$$x = \frac{520 \text{ mg} \times 25 \text{ mg Ibup}}{400 \text{ mg Ibup}} = 32.5 \text{ mg de peso Tableta.}$$

En 32.5 mg de peso de una fracción de tableta de Ibuprofeno de 400 mg habrán 25 mg de concentración.

Preparación de la dosis de Ibuprofeno de 25 mg / kg:

25 mg Ibuprofeno → 1000 g (peso)
X → 200 g (peso de rata)

$$x = \frac{25 \text{ mg Ibup} \times 200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = 5 \text{ mg Ibuprofeno}$$

A cada rata de 200 g de peso del grupo N° 2, se le administrarán 5 mg de Ibuprofeno en 1 mL. Se necesitará un total de 6 mL de solución.

E) Preparación de la Solución de Dexametasona 2 mg/Kg: Laboratorio FARMINDUSTRIA.

En 1 tableta de Dexametasona de 4 mg de concentración hay 100 mg de peso.

Entonces: 100 mg (peso de tableta) → 4 mg Dexametasona
X → 2 mg Dexametasona

$$x = \frac{100 \text{ mg} \times 2 \text{ mg Dexam}}{4 \text{ mg Dexam}} = 50 \text{ mg de peso tableta.}$$

Habrá que fraccionarse 50 mg del peso de la tableta para obtener los 2 mg de Dexametasona.

2 mg Dexametasona \longrightarrow 1000 g peso.

X \longrightarrow 200 g (peso de la rata)

$$x = \frac{2 \text{ mg Dexam.} \times 200 \text{ g (peso rata)}}{1000 \text{ g}} = 0.4 \text{ mg Dexametasona}$$

A cada rata de 200 g de peso del grupo N° 3, se le administrará 0.4 mg/ mL de Dexametasona.

F) Preparación de la Solución de Na Cl 0.9 % (5mL/ kg):

5 mL NaCl \longrightarrow 1000 g peso

X \longrightarrow 200 g (peso de la rata).

$$x = \frac{5 \text{ mL} \times 200 \text{ g peso de rata}}{1000 \text{ geso}} = 1 \text{ mL Na Cl 0.9\%}$$

Se administrará 1 mL de Na Cl 0.9% a cada rata de 200 g de peso del Grupo N° 1. Se necesitará un total de 6 mL de la solución.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Presentación

4.1.1. Prueba de solubilidad

Los resultados de la prueba de solubilidad para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) se muestran en la Tabla N° 3.

Tabla 3: Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

Solvente	Solubilidad
1. Agua	+++
2. Etanol	+++
3. Metanol	++
4. Cloroformo	-
5. Éter de petróleo	+
Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++), Poco soluble (+), Insoluble (-)	

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla N° 3, se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) son muy solubles en etanol y agua, soluble en metanol, poco soluble en éter de petróleo e insoluble en cloroformo.

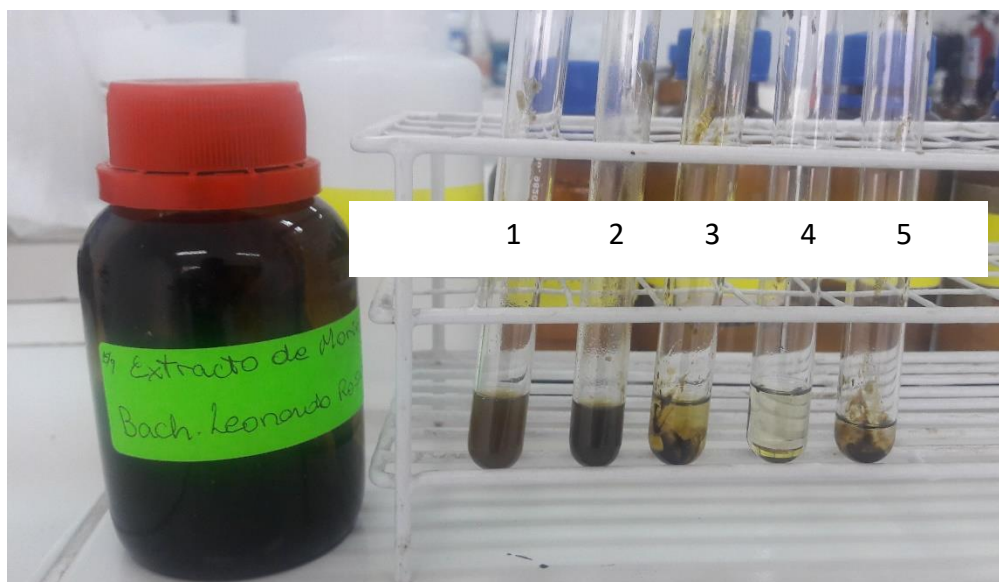


Figura 8. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa). 1: Agua; 2: etanol, 3. Metanol; 4: Cloroformo; 5 Éter de petróleo.

4.1.2. Marcha fitoquímica

Tabla 4: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Wagner	Alcaloides	--
2. Popoff	Alcaloides	--
3. Mayer	Alcaloide	+
4. Dragendorff	Alcaloide	+
5. Shinoda	Flavonoides	+
6. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
7. Gelatina + NaCl	Taninos	+
8. Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	--
9. Ninhidrina	Aminoácidos libres	--
10. Fehling A y Fehling B	Azúcares reductores	--
Leyenda: Presencia (+) Ausencia (-)		

Fuente: Elaboración propia En el ensayo de marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y alcaloides, como se muestra en la tabla 4 y figura 2.

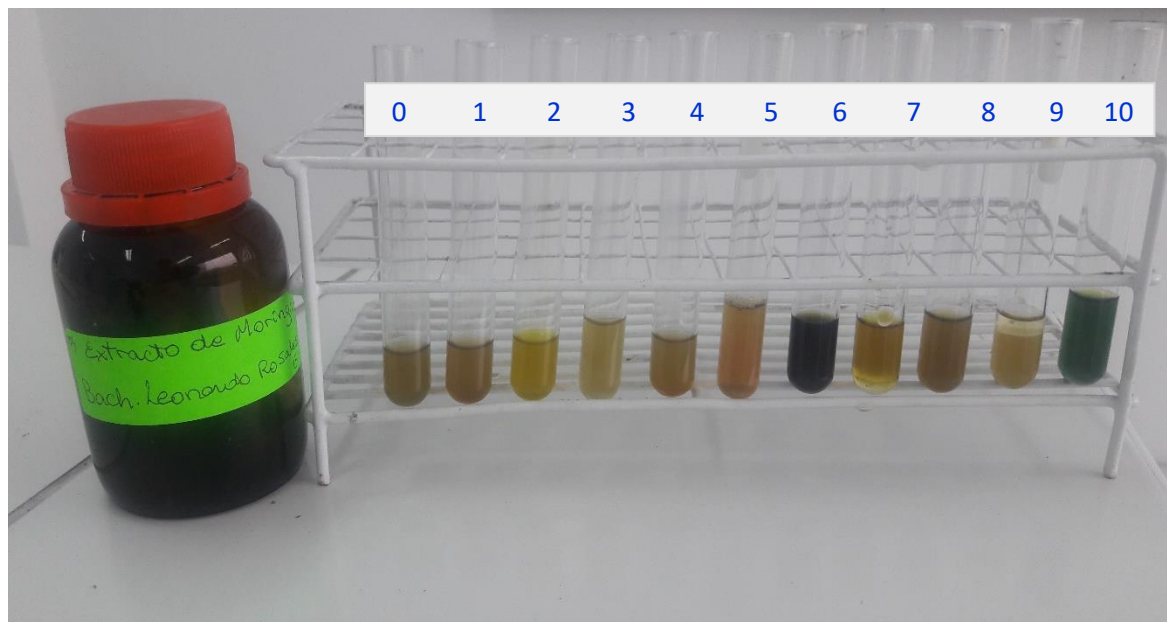


Figura 9. Resultados de la marcha fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa). 0: Blanco; 1: Wagner; 2: Popoff; 3: Mayer; 4: Dragendorff; 5: Shinoda; 6: Tricloruro férrico; 7: Gelatina + NaCl; 8: Liebermann-Burchard; 9: Nihidrina; 10: Fehling A y Fehling B.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.3. Resultados del ensayo del efecto antiinflamatorio

La medición del edema formado por la administración de carragenina[®] en la pata derecha de la rata como signo de inflamación, se realizó usando el plestismómetro manual y se midieron los volúmenes (mL) en diferentes tiempos (1, 3, 5 y 7 horas) así como el promedio durante las 7 horas de observación. De los tratamientos administrados, la dosis que evidenció mayor eficacia antiinflamatoria del extracto fue de 500 mg/Kg (23,5%) y al comparar con el grupo control negativo la diferencia es significativa ($p < 0.05$).

La dosis de 200 mg/Kg tiene eficacia antiinflamatoria similar al grupo de Ibuprofeno (5.8%). La dosis del extracto de 300 mg/Kg obtuvo eficacia de 17,6% y el grupo de Dexametasona fue 23,5% como se muestra en tabla 3 y figura 3.

Tabla 5: Valores promedio de los volúmenes de la inflamación y porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) durante 7 horas de observación.

Grupo	n	Valor medio de inflamación (mL)				Valor medio de inflamación durante 7 horas (mL)	Eficacia antiinflamatoria (%)
		1 h	3 h	5 h	7 h		
Solución Salina Fisiológica 0.9% (5 mL/Kg): 1mL	6	1.6±0.12	1.7±0.14	1.8±0.17	1.8±0.15	1.7±0.12	0
Ibuprofeno (25 mg/Kg): 1mL	6	1.6±0,05	1.6±0.05	1.5±0.08	1.5±0.08	1.6±0.08	5.8
Dexametasona (2 mg/Kg): 1mL	6	1.6±0.05	1.4±0.07	1.2±0.06	1.1±0.07	1.3±0.04	23.5
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam 200 mg/Kg: 0.8 mL	6	1.7±0.07	1.6±0.09	1.5±0.09	1.4±0.15	1.6±0,09	5.8
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam 300 mg/Kg: 1.2 mL	6	1.6±0.05	1.5±0.04	1.2±0.05	1.1±0.05	1.4±0.04	17.6
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam 500 mg/Kg : 2 mL	6	1.5±0.06	1.3±0.11	1.2±0.09	1.2±0.10	1.3±0.05	23.5

Fuente: Elaboración propia.

% Eficacia Antiinflamatoria = 100 – (Tratamiento * 100/Solución Salina Fisiológica).

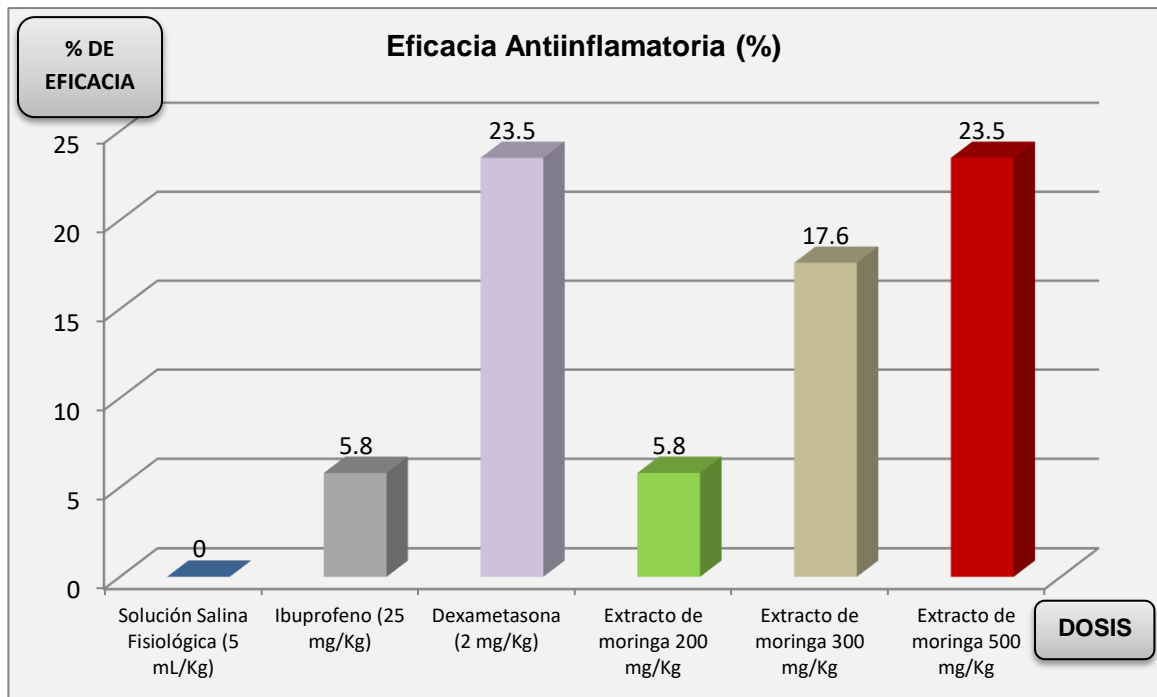


Figura 10: Resultados de la eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 10, se aprecia que la eficacia antiinflamatoria es mayor cuando aumenta la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de moringa, la dosis del extracto de 500 mg/Kg es similar a grupo de Dexametasona, la dosis del extracto de 200 mg/Kg es similar al grupo de Ibuprofeno, la dosis del extracto de 300 mg/Kg tiene mejor efecto que el grupo de Ibuprofeno.

En la figura 11, se observa que la inflamación fue mayor para el grupo tratado con solución salina fisiológica; en los grupos tratados con extracto hidroalcohólico de las hojas de moringa el volumen de inflamación disminuye conforme aumenta la dosis, el grupo de Dexametasona obtuvo menor volumen de inflamación que el grupo de Ibuprofeno.

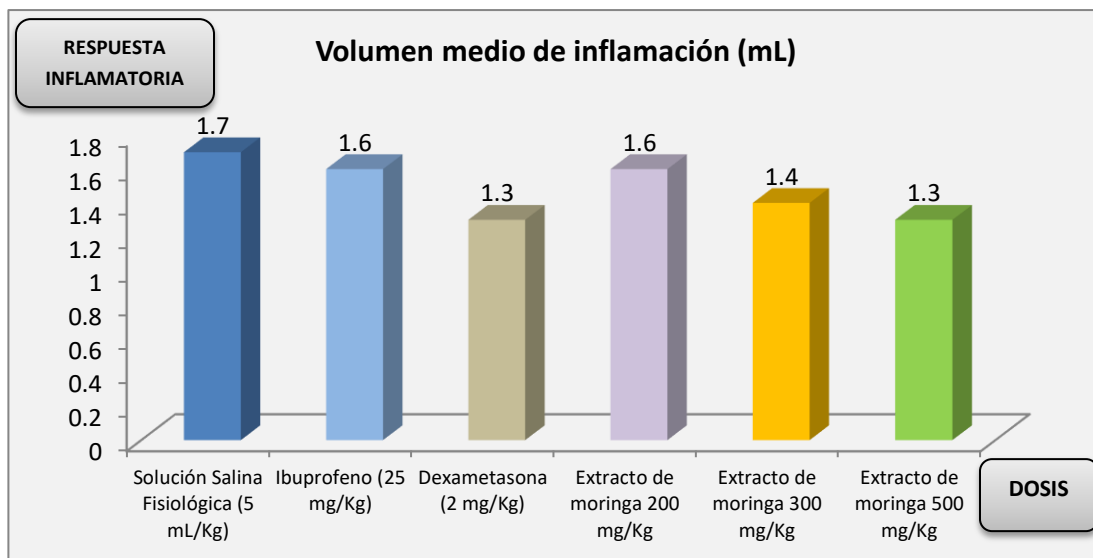


Figura 11: Volumen medio de inflamación (mL) del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) durante 7 horas de observación.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Hora	Inter-grupos	.278	5	.056	9.355	.000
	Intra-grupos	.178	30	.006		
	Total	.456	35			
3 Hora	Inter-grupos	.656	5	.131	14.485	.000
	Intra-grupos	.272	30	.009		
	Total	.928	35			
5 Hora	Inter-grupos	1.536	5	.307	29.567	.000
	Intra-grupos	.312	30	.010		
	Total	1.848	35			
7 Hora	Inter-grupos	2.486	5	.497	41.046	.000
	Intra-grupos	.363	30	.012		
	Total	2.849	35			
Eficiencia	Inter-grupos	.809	5	.162	26.000	.000
	Intra-grupos	.187	30	.006		
	Total	.996	35			

Fuente: Elaboración propia.

gl: Grados de libertad; Sig: significancia del estadístico F.

En la tabla 6, se aprecia el estadístico F, el cual representa la relación de variación de promedios entre el inter grupo e intra grupos, los mismo que se relacionan con los grados de libertad (calcula la variabilidad de los datos) y acompaña con el nivel de significancia. Por tanto, entre los grupos experimentales existe diferencias significativas ($p < 0.05$) en los diferentes tiempos de observación y en la evaluación de eficacia antiinflamatoria.

Tabla 7: Prueba de Tukey para la eficacia antiinflamatoria durante 7 horas según grupos experimentales.

	Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.317		
	<i>Moringa oleifera</i> Lam 500 mg/kg	6	1.350		
	<i>Moringa oleifera</i> Lam 300 mg/kg	6	1.383		
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6		1.567	
	<i>Moringa oleifera</i> Lam 200 mg/kg	6		1.583	
	SSF	6			1.733
	Sig.		.689	.999	1.000

Fuente: Elaboración propia.

N: Número de ratas por cada grupo experimental; SSF: Solución salina fisiológica; Sig: Significancia.

En la tabla 7, se observa que existen 3 sub grupos que tienen efectos similares, estos son: el grupo de Dexametasona con los grupos de dosis del extracto de hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) de 500 mg/Kg y 300 mg/Kg. El grupo de Ibuprofeno tiene efecto similar con el grupo de dosis de 200 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa). Podemos asumir que no existe diferencia entre los grupos mencionados para cada caso.

En la tabla 8, se presenta las comparaciones múltiples por el método de Dunnett con la finalidad de mostrar los niveles de confianza para cada comparación individual, en nuestro caso compara el grupo de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) 500 mg/Kg con los otros grupos de tratamiento, se observa que existe diferencias significativas ($p < 0.05$) según grupos de tratamiento, además se aprecia que los promedios son diferentes, ya que los valores de intervalo de confianza son del mismo signo (positivo). Según este análisis la dosis de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) 500 mg/Kg tiene mejor efecto antiinflamatorio que las otras dosis de moringa usadas en el estudio.

Tabla 8: Prueba de Dunnett según grupos de tratamiento y tiempo de observación.

	(I) Grupo	(J) Grupo	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
1 Hora	SSF	Moringa 500 mg/kg	.009	.032	.268
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 500 mg/kg	.023	.015	.252
	Moringa 200 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.165	.402
2 Hora	SSF	Moringa 500 mg/kg	.000	.221	.513
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.154	.446
	Moringa 200 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.137	.429
	Moringa 300 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.042	.004	.296
3 Hora	SSF	Moringa 500 mg/kg	.000	.344	.656
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 500 mg/kg	.001	.094	.406
	Moringa 200 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.002	.077	.390
7 Hora	SSF	Moringa 500 mg/kg	.000	.515	.852
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.181	.519
	Moringa 200 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.008	.048	.385
Eficiencia	SSF	Moringa 500 mg/kg	.000	.262	.504
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.096	.338
	Moringa 200 mg/kg	Moringa 500 mg/kg	.000	.112	.354

Fuente: Elaboración propia.

Sig: Significancia; SSF: Solución salina fisiológica.

Prueba estadística

Se realizó el análisis ANOVA ya que se trabajó con más de tres grupos, además se realizó la prueba de Tukey para observar si existen diferencias estadísticas (anexo 3).

Análisis de datos

Se trabajó con nivel de significancia de $p < 0.05$, se usó el programa SPSS versión 20, los resultados fueron presentados en promedio y desviación estándar en tablas y gráficas.

4.2. Discusión

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en el ensayo de solubilidad, presentó solubilidad frente a solventes polares como el agua, etanol y metanol, poco soluble en éter de petróleo e insoluble en cloroformo (tabla 1 y figura 1). Este ensayo indica que los constituyentes químicos del extracto serían principalmente polares como los compuestos fenólicos, flavonoides ya que en su estructura contienen grupos hidroxilos y estarían formando puentes de hidrógeno con los solventes polares, también el nitrógeno puede formar puentes de hidrógeno como los que se encuentran en los alcaloides; por otro lado, los glicósidos también estarían formando puentes de hidrógeno, por lo que en el extracto también existirá compuestos en forma de glicósido ⁽³¹⁾.

En el ensayo de marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) se halló la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos (tabla 2 y figura 2), siendo

compatible con los resultados de prueba de solubilidad, y estos estudios han demostrado que los flavonoides tienen efecto antiinflamatorio por disminución de los niveles de interleucinas, disminución de proteínas totales en exudados inflamados, asimismo como inhibición de desarrollo de granulomas⁽³¹⁾ . A los flavonoides también se le confiere propiedades antioxidantes por su actividad de inhibir enzimas como la fosfolipasa A2, ciclooxigenasa y atrapar radicales como oxidrilos, superóxidos y peróxidos⁽³²⁾. Resultados similares encontró en su investigación Anwar, F. et al (2007)⁽³⁷⁾ señalando como medicina tradicional y derivados de experimentos las propiedades y usos medicinales de las hojas de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) para reducir la inflamación entre otras propiedades benéficas. Asimismo, Posmontier, B. et al (2011)⁽³⁸⁾ en su investigación “una revisión de varios estudios experimentales realizados en animales” encontró que las hojas de *Moringa oleifera* (Moringa) tienen efectos en la reducción de la inflamación y reversión de la artritis reumatoidea. Además otros resultados encontrados por Posmontier son compatibles con lo reportados por Coz X, et al (2018)⁽¹⁴⁾ quienes hallaron la presencia de ácido gálico y rutina como los principales compuestos fenólicos y con alta actividad antioxidante responsables de la prevención de formaciones malignas ya que reducen el efecto de radicales libres y el envejecimiento y deterioro general del organismo, reduciendo el daño oxidativo. Estas propiedades podrían estar relacionados con el efecto antiinflamatorio hallado en nuestro estudio, el cual hubo mayor efecto a medida que se aumentó la dosis (dosis dependiente).

Por otro lado, Jaafaru, M. et al. (2018) hallaron la presencia en glucomoringin isotiocianato el cual evidenció efecto neuroprotector en enfermedades neurodegenerativas inducidas por estrés oxidativo⁽²⁷⁾.

Carbajal, D. et al (2014)⁽²⁸⁾ usaron la carragenina[®] en un modelo de pleuresía, en el cual la carragenina aumentó significativamente la actividad de la enzima mieloperoxidasa y la concentración de proteínas totales en los

exudados pleurales que son signos de inflamación. Diversos estudios han usado la carragenina para inducir inflamación, el cual produce al inicio liberación de histamina, citoquinas y serotoninas, así mismo en una segunda fase se libera proteasas, bradiquininas, lisosomas y prostaglandinas el cual exhibe los eventos de la inflamación ⁽²⁹⁾, en nuestro estudio se observó edema producido por inyección de carragenina[®] al 2% en la pata de la rata, también se ha usado carragenina al 3% ⁽³⁰⁾ para inducir edema plantar en el animal de experimentación.

Además otros estudios relacionan a los alcaloides encontrados con la actividad anticancerígena encontrados en las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), como es el caso de la chabamida extraída del género Piper con potente actividad sobre adenocarcinoma de colon ⁽³³⁾, como es sabido, en procesos cancerosos están involucrados mecanismos inflamatorios y sus mediadores químicos.

En el estudio se usó la carragenina al 2% para inducir edema en pata de rata, el cual exhibe los eventos propios de la inflamación, este fue tratado con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) y se halló que a dosis de 500 mg/kg de peso hubo mayor reducción de la inflamación, efecto que se relaciona con sus componentes activos hallados como son; compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y taninos. En estudios previos, la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) ha presentado propiedades antioxidantes y que puede ser útil en pacientes con problemas hepáticos, renales y cerebrales, ya que disminuyen la fosfatasa alcalina, transaminasa y la acetil colinesterasa sérica tal como lo reporta Abdelrasoul M, et al 2018 ⁽³⁴⁾. Mahaman Y, et al. 2018, reporta también propiedades neuroprotectoras y antioxidantes de la *Moringa oleifera* Lam (Moringa) ⁽³⁵⁾.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones:

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) contiene principales componentes como: compuestos fenólicos como el kaempferol-3-O-(6 " -malonil-glucósido), 3 ácido caffeoylquinic y ácido 5-cafeoilquínico y ácido gálico (Singh et al., 2009)³⁹. Así mismo glucosinolatos e isocianatos como el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el 4-(α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el isotiocianato de bencilo y el 4-(α -L-ramnopiranosiloxi)-glucosinolato de bencil (Ezeamuzle et al., 1996; Mahajan y Mehta, 2008). También presenta flavonoides como la rutina y quercetina, quercetina-3-O-glucósido y quercetina-3-O-(6 " - malonilglucósido), (Farooq et al., 2012)⁴⁰.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) a concentraciones de 500 mg/kg presenta mayor actividad antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) de 500 mg/kg presentó un porcentaje equivalente muy similar al efecto antiinflamatorio de la Dexametasona de 2mg/kg y superior al Ibuprofeno de 25mg/kg.

5.2. Recomendaciones:

1. Realizar estudios de toxicidad a corto, mediano y largo plazo para determinar posibles efectos secundarios.
2. Realizar estudio pre clínicos con otros modelos experimentales como inflamación crónica y estudio histológicos para brindar mayor sustento científico de su actividad terapéutica y evaluar efectos farmacológicos y nutricionales.
3. Realizar estudios farmacológicos a nivel molecular para determinar el mecanismo de acción.

REFERENCIAS

1. Rengifo E. Legislación de fitofármacos en el Perú. Regulation of Phytomedicine II. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8(1): 58-62
2. Dixit V, Naik E. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. J Exp Med. 2011; 208(3): 417- 20.
3. Echegaray P, Echegaray J, Mosquera A. Fitoterapia y sus aplicaciones. Revista Española de Podología, 2011; 22(6): 258-267
4. Bonal R, Rivera R, Bolivar M. Moringa oleífera: una opción saludable para el bienestar. Medisan. 2012; 16(10): 1597
5. Olson M, Fahet J. Moringa oleífera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2011; 82(1): 1071-1082
6. Bayarsaihan D. Epigenetic mechanisms in inflammation. J Dent Res. 2011; 90(1): 9-17.
7. Espinós D, López A, Calvo E. Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación. En línea. Fecha de acceso 28 octubre 2018. URL disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/536/554>
8. Ben S, Makkar H. Desengrasado de harina de semilla de *Moringa oleífera* como aditivo para piensos para las ovejas. Ciencia y tecnología de la alimentación animal. 2019; 1(1): 150: 27
9. Foidl N, Makkar H, Becker K. El potencial de la *Moringa oleífera* Lam (Moringa) para la agricultura y usos industriales. En: El árbol milagroso: El múltiples atributos de la moringa. Ed. J. LowellFuglie. Países Bajos. 2011: 15-15
10. Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de la salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Men Inst. Investig. Cienc. Salud. 2015; 13(2): 8-17
11. Anticona M. Caracterización fisicoquímica de la moringa (*Moringa oleífera*). Universidad Nacional de Trujillo. Escuela académico profesional de Ingeniería Agroindustrial. 2017

12. Chepote M. Siembra del cultivo de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en la Pampa Villacuri, departamento de Ica. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria La Molina. 2018
13. Zaa C, Valdivia M, Marcelo A. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Petiveria allicea*. Rev. Perú biol. 2012; 19(3): 329-334
14. Coz X, Campos R, Reynoso R, Ramos M, Loarca G, Guzmán S. Moringa infusion (*Moringa oleifera*) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vitro. Industrial Crops & Products. 2018; 118(1): 95-101.
15. Idoga E, Ambali S, Ayo J, Mohammed A. Assessment of antioxidant and neuroprotective activities of methanol extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves in subchronic chlorpyrifos-intoxicated rats. Comparative Clinical Pathology 2018; 27(4): 917-925.
16. Igado O, Glaser J, Ramos M, Bankoglu E, Atiba F, Olopade J, et al. Isolation of a novel compound (MIMO2) from the methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves: protective effects against vanadium-induced cytotoxicity. Drug & Chemical Toxicology 2018; 41(3): 249-258.
17. Omotoso G, Gbadamosi I, Afolabi T, Abdulwahab A, Akinlolu A. Ameliorative effects of Moringa on cuprizone-induced memory decline in rat model of multiple sclerosis. Anatomy & Cell Biology. 2018; 51(2): 119-127.
18. Godino M. *Moringa oleifera*: árbol multiusos de interés forestal para el sur de la Península Ibérica. Universidad Politécnica de Madrid. En línea. Fecha de acceso 03 noviembre 2018. URL disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/020-moringa-v3-1476963334.pdf>
19. Olson M, Fahey J. Moringa oleifera: un árbol multiuso para las zonas tropicales secas. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2011; 82(1): 1071-1082
20. Villalba E. Inflamación I. Rev. Act. Clin. 2014; 43(1)
21. León M, Alvarado A, De Armas J, Miranda L, Varens J, Cuesta J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Revista de enfermedades no transmisibles. 2015; 5(1). En línea. Fecha de acceso 03

noviembre 2018. URL disponible en:
<http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/329>

22. Motiño O. Papel de las prostaglandinas producidas por la ciclooxigenasa-2 en la resistencia a la insulina asociada a la enfermedad hepática grasa no alcohólica. (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Madrid. 2016
23. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos para el estudio de productos naturales. 3^{era} ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016
24. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca. Fisiología Vegetal*. 2009; 2(3): 119-145
25. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995. p. 220
26. Arroyo A, Villena N. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. *Ciencia e Investigación*. 2012; 15(1): 15-19
27. Jaafaru M, Nordin N, Shaari K, Rosli R, Abdull Razis A. Isothiocyanate from *Moringa oleifera* seeds mitigates hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and preserved morphological features of human neuronal cells. *Plos ONE* [serial on the Internet]. (2018, May 3), [cited August 7, 2018]; 13(5): 1-17.
28. Carbajal D, Nolina V, Ravelo Y, Pérez Y, Oyarzabal A, Mas R. Efectos del policosanol en los modelos de pleurosia inducida por carragenina y granuloma por algodón. *Revista Cubana de Farmacia*. 2013; 47(4): 492-501
29. Herrera G, Castañeda G. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos proteicos de leguminosa en el modelo de inflamación inducida por carragenina. *Tlamati Sabiduría*. 2016; 7(1):
30. Regalado A, Sánchez L, Mancebo B. Actividad antiinflamatoria de los extractos metanólicos de hojas y de tallos de *Tabebuia hypoleuca* (C. Wright) Urb. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 2015; 3(5): 109-117
31. Arroyo J, Enciso E. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungla rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *An Fac Med*. 2011; 72(4)

32. Cuevas E, Escamilla C, Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 2009; 52(2)
33. Rios K, Fuertes C, Arroyo J, Ruíz J. Efecto quimioprotector del extracto alcaloideo de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2017; 34(1): 70-75
34. Abdelrasoul M. Modulation of Abamectin and Indoxacarb -Induced Toxicity on Male Albino Rats by *Moringa oleifera*. Alexandria Science Exchange Journal [serial on the Internet]. (2018, Apr), [cited August 7, 2018]; 39(2): 232-243.
35. Mahaman Y, Huang F, Wu M, Wang Y, Wei Z, Wang X, et al. *Moringa Oleifera* Alleviates Homocysteine-Induced Alzheimer's Disease-Like Pathology and Cognitive Impairments. Journal Of Alzheimer's Disease. 2018; 63(3): 1141-1159.
36. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. Exp Biol Med. 1962; 111(3):544-7.
37. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. Phytother Res. 2007; 21(1):17-25.
38. Posmontier B. The medicinal qualities of *Moringa oleifera*. Holist Nurs Pract. 2011; 25(2): 80-7.
39. Singh B, Singh R, Prakash D, Dhakarey R, Upadhyay G, Singh H: Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. Food and Chemical Toxicology (Internet) 2009. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691509000611>
40. Farooq F, Rai M, Tiwari A, Arif A, Farooq S: Medicinal properties of *Moringa oleifera*: An overview of promising healer. Journal of Medicinal Plants Research (Internet) 2012. Disponible en:http://miracletrees.org/moringa-doc/medicinal_properties_of_moringa_oleifera.pdf

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL</p> <p>1. ¿Cuál es el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) en ratas albinas inducidas a inflamación aguda?</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>1. ¿Cuáles son los principales grupos de constituyentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda?</p> <p>2. ¿Cuál es la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) con mayor actividad antiinflamatoria en ratas inducidas a inflamación aguda?</p> <p>3. ¿Cuál es el porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en ratas albinas inducidas a inflamación aguda?</p>	<p>GENERAL</p> <p>1. Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>1. Determinar los posibles metabolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda.</p> <p>2. Determinar la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) que presentará mayor actividad antiinflamatoria en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.</p> <p>3. Determinar el porcentaje de la eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en</p>	<p>GENERAL</p> <p>1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) tiene efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.</p> <p>ESPECÍFICAS</p> <p>1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) tiene grupos constituyentes activos responsables del efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.</p> <p>2. Las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) de 200 mg/kg, 300mg/kg y 500mg/kg presentan una concentración óptima con mayor actividad antiinflamatoria en ratas albinas inducidas a inflamación aguda.</p> <p>3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) presenta mayor porcentaje de eficacia</p>	<p>VI</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa)</p> <p>VD</p> <p>Efecto antiinflamatorio en ratas albinas inducidas a carragenina.</p>	<p>Constituyentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).</p> <p>Inflamación inducida con carragenina 2%</p>	<p>Metabolitos secundarios</p> <p>% de eficacia antiinflamatoria</p>	<p>Grupo 1: Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg).</p> <p>Grupo 2: Ibuprofeno 25 mg/Kg).</p> <p>Grupo 3: Dexametasona (2 mg/kg).</p> <p>Grupo 4: Extracto seco de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) (200 mg/Kg).</p> <p>Grupo 5: Extracto seco de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) (300 mg/Kg).</p> <p>Grupo 6: Extracto seco de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) (500 mg/Kg).</p>

	ratas albinas inducidas a inflamación aguda.	antiinflamatoria frente al Ibuprofeno y la Dexametasona en ratas albinas inducidas a la inflamación aguda.				
	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Tipo: Aplicado</p> <p>Nivel: Explicativo</p>	<p>Población:</p> <p>Planta de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa), del departamento de Piura, provincia de Piura, distrito 26 de Octubre</p> <p>Ratas albinas con peso promedio 200 g \pm 50 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud.</p> <p>Muestras:</p> <p>1kg de hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa).</p> <p>36 ratas inducidas a edema plantar con carragenina al 2%.</p>	<p>Técnica:</p> <p>Observación</p> <p>Instrumento:</p> <p>Ficha de observación.</p>	<p>Diseño de Investigación:</p> <p>Experimental, prospectivo, longitudinal.</p>		

Anexo 2. Análisis descriptivo del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) en ratas albinas.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
1 Hora	SSF	6	1.650	.1225	.0500	1.521	1.779	1.5	1.8
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6	1.633	.0516	.0211	1.579	1.688	1.6	1.7
	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.567	.0516	.0211	1.512	1.621	1.5	1.6
	Moringa 200 mg/kg	6	1.783	.0753	.0307	1.704	1.862	1.7	1.9
	Moringa 300 mg/kg	6	1.583	.0753	.0307	1.504	1.662	1.5	1.7
	Moringa 500 mg/kg	6	1.500	.0632	.0258	1.434	1.566	1.4	1.6
	Total	36	1.619	.1142	.0190	1.581	1.658	1.4	1.9
3 Hora	SSF	6	1.700	.1414	.0577	1.552	1.848	1.5	1.9
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6	1.633	.0516	.0211	1.579	1.688	1.6	1.7
	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.383	.0753	.0307	1.304	1.462	1.3	1.5
	Moringa 200 mg/kg	6	1.617	.0983	.0401	1.513	1.720	1.5	1.7
	Moringa 300 mg/kg	6	1.483	.0408	.0167	1.440	1.526	1.4	1.5
	Moringa 500 mg/kg	6	1.333	.1211	.0494	1.206	1.460	1.1	1.4
	Total	36	1.525	.1628	.0271	1.470	1.580	1.1	1.9
5 Hora	SSF	6	1.783	.1722	.0703	1.603	1.964	1.6	2.1
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6	1.533	.0816	.0333	1.448	1.619	1.4	1.6
	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.200	.0632	.0258	1.134	1.266	1.1	1.3
	Moringa 200 mg/kg	6	1.517	.0983	.0401	1.413	1.620	1.4	1.6
	Moringa 300 mg/kg	6	1.233	.0516	.0211	1.179	1.288	1.2	1.3
	Moringa 500 mg/kg	6	1.283	.0983	.0401	1.180	1.387	1.1	1.4
	Total	36	1.425	.2298	.0383	1.347	1.503	1.1	2.1
7 Hora	SSF	6	1.833	.1506	.0615	1.675	1.991	1.6	2.0
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6	1.500	.0894	.0365	1.406	1.594	1.4	1.6
	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.083	.0753	.0307	1.004	1.162	1.0	1.2
	Moringa 200 mg/kg	6	1.367	.1506	.0615	1.209	1.525	1.2	1.6
	Moringa 300 mg/kg	6	1.133	.0516	.0211	1.079	1.188	1.1	1.2
	Moringa 500 mg/kg	6	1.150	.1049	.0428	1.040	1.260	1.0	1.3
	Total	36	1.344	.2853	.0476	1.248	1.441	1.0	2.0
Eficiencia	SSF	6	1.733	.1211	.0494	1.606	1.860	1.6	1.9
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	6	1.567	.0816	.0333	1.481	1.652	1.5	1.7
	Dexametasona 2 mg/kg	6	1.317	.0408	.0167	1.274	1.360	1.3	1.4
	Moringa 200 mg/kg	6	1.583	.0983	.0401	1.480	1.687	1.5	1.7
	Moringa 300 mg/kg	6	1.383	.0408	.0167	1.340	1.426	1.3	1.4
	Moringa 500 mg/kg	6	1.340	.0548	.0224	1.293	1.407	1.3	1.4
	Total	36	1.489	.1687	.0281	1.432	1.546	1.3	1.9

Anexo 3. Prueba de Tukey para determinar la diferencia significativa entre los grupos de tratamiento.

Tukey	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
1 Hora	SSF	Moringa 500 mg/kg	.1500	.0445	.023	.015	.285
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Moringa 200 mg/kg	-.1500	.0445	.023	-.285	-.015
	Dexametasona 2 mg/kg	Moringa 200 mg/kg	-.2167	.0445	.000	-.352	-.081
	Moringa 200 mg/kg	Ibuprofeno 25 mg/Kg	.1500	.0445	.023	.015	.285
		Dexametasona 2 mg/kg	.2167	.0445	.000	.081	.352
		Moringa 300 mg/kg	.2000	.0445	.001	.065	.335
		Moringa 500 mg/kg	.2833	.0445	.000	.148	.419
	Moringa 300 mg/kg	Moringa 200 mg/kg	-.2000	.0445	.001	-.335	-.065
Moringa 500 mg/kg	SSF	-.1500	.0445	.023	-.285	-.015	
3 Hora	SSF	Dexametasona 2 mg/kg	.3167	.0549	.000	.150	.484
		Moringa 300 mg/kg	.2167	.0549	.005	.050	.384
		Moringa 500 mg/kg	.3667	.0549	.000	.200	.534
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	Dexametasona 2 mg/kg	.2500	.0549	.001	.083	.417
		Moringa 500 mg/kg	.3000	.0549	.000	.133	.467
	Dexametasona 2 mg/kg	SSF	-.3167	.0549	.000	-.484	-.150
		Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.2500	.0549	.001	-.417	-.083
		Moringa 200 mg/kg	-.2333	.0549	.002	-.400	-.066
	Moringa 200 mg/kg	Dexametasona 2 mg/kg	.2333	.0549	.002	.066	.400
		Moringa 500 mg/kg	.2833	.0549	.000	.116	.450
	Moringa 300 mg/kg	SSF	-.2167	.0549	.005	-.384	-.050
	Moringa 500 mg/kg	SSF	-.3667	.0549	.000	-.534	-.200
		Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.3000	.0549	.000	-.467	-.133
		Dexametasona 2 mg/kg	-.0500	.0549	.941	-.217	.117
		Moringa 200 mg/kg	-.2833	.0549	.000	-.450	-.116
	5 Hora	SSF	Ibuprofeno 25 mg/Kg	.2500	.0588	.002	.071
Dexametasona 2 mg/kg			.5833	.0588	.000	.404	.762
Moringa 200 mg/kg			.2667	.0588	.001	.088	.446
Moringa 300 mg/kg			.5500	.0588	.000	.371	.729
Moringa 500 mg/kg			.5000	.0588	.000	.321	.679
Ibuprofeno 25 mg/Kg		SSF	-.2500	.0588	.002	-.429	-.071
		Dexametasona 2 mg/kg	.3333	.0588	.000	.154	.512
		Moringa 300 mg/kg	.3000	.0588	.000	.121	.479
	Moringa 500 mg/kg	.2500	.0588	.002	.071	.429	

7 Hora	Dexametasona 2 mg/kg	SSF	-.5833	.0588	.000	-.762	-.404
		Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.3333	.0588	.000	-.512	-.154
		Moringa 200 mg/kg	-.3167	.0588	.000	-.496	-.138
	Moringa 200 mg/kg	SSF	-.2667	.0588	.001	-.446	-.088
		Dexametasona 2 mg/kg	.3167	.0588	.000	.138	.496
		Moringa 300 mg/kg	.2833	.0588	.001	.104	.462
		Moringa 500 mg/kg	.2333	.0588	.005	.054	.412
	Moringa 300 mg/kg	SSF	-.5500	.0588	.000	-.729	-.371
		Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.3000	.0588	.000	-.479	-.121
		Moringa 200 mg/kg	-.2833	.0588	.001	-.462	-.104
	Moringa 500 mg/kg	SSF	-.5000	.0588	.000	-.679	-.321
		Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.2500	.0588	.002	-.429	-.071
		Moringa 200 mg/kg	-.2333	.0588	.005	-.412	-.054
	SSF	Ibuprofeno 25 mg/Kg	.3333	.0635	.000	.140	.527
		Dexametasona 2 mg/kg	.7500	.0635	.000	.557	.943
Moringa 200 mg/kg		.4667	.0635	.000	.273	.660	
Moringa 300 mg/kg		.7000	.0635	.000	.507	.893	
Moringa 500 mg/kg		.6833	.0635	.000	.490	.877	
Ibuprofeno 25 mg/Kg	SSF	-.3333	.0635	.000	-.527	-.140	
	Dexametasona 2 mg/kg	.4167	.0635	.000	.223	.610	
	Moringa 300 mg/kg	.3667	.0635	.000	.173	.560	
	Moringa 500 mg/kg	.3500	.0635	.000	.157	.543	
Dexametasona 2 mg/kg	SSF	-.7500	.0635	.000	-.943	-.557	
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.4167	.0635	.000	-.610	-.223	
	Moringa 200 mg/kg	-.2833	.0635	.001	-.477	-.090	
Moringa 200 mg/kg	SSF	-.4667	.0635	.000	-.660	-.273	
	Dexametasona 2 mg/kg	.2833	.0635	.001	.090	.477	
	Moringa 300 mg/kg	.2333	.0635	.011	.040	.427	
	Moringa 500 mg/kg	.2167	.0635	.021	.023	.410	
Moringa 300 mg/kg	SSF	-.7000	.0635	.000	-.893	-.507	
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.3667	.0635	.000	-.560	-.173	
	Moringa 200 mg/kg	-.2333	.0635	.011	-.427	-.040	
Moringa 500 mg/kg	SSF	-.6833	.0635	.000	-.877	-.490	
	Ibuprofeno 25 mg/Kg	-.3500	.0635	.000	-.543	-.157	
	Moringa 200 mg/kg	-.2167	.0635	.021	-.410	-.023	

Anexo 4. Clasificación taxonómica de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

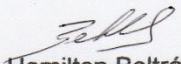
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "MORINGA" proporcionada por LEONARDO ENRIQUE ROSALES GARCIA, ha sido estudiada científicamente y determinada como ***Moringa oleifera*** y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Dilleniidae
Orden: Capparales
Familia: Moringaceae
Género: ***Moringa***
Especie: ***Moringa oleifera*** Lam.

Se expide la presente certificación a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Lima, 11 Mayo 2018


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CRP. 2719

Anexo 5. Certificado Sanitario de ratas albinas.

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		009 - 2019
Producto	: Rata Albina	Lote N° : R - 01- 2019
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 36
Cepa	: Holtzman	Edad : 2 a 2 meses ½
Peso	: 200 a 250 g.	Sexo : hembras
G.R.	: 0036883	Destino : Rosales García Leonardo
Lima	: 18-01-2019	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. 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, 18 de enero del 2019 (Fecha de atención y emisión del certificado)		
NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 ----- M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586

Anexo 6. Validación de Instrumentos.

Anexo 6. Validación de instrumentos



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

N°:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC (MARCHA FITOQUÍMICA)

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Moringa oleifera* Lam "MORINGA" EN RATAS INDUCIDAS A
INFLAMACIÓN AGUDA**

Es valiosa su opinión referente a lo siguiente:

N°	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE					
		<50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?						
2	¿En qué porcentaje considera que los items están referidos a los conceptos del tema?						
3	¿Qué porcentaje de los items planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?						
4	¿En qué porcentaje estima que los items del instrumento son de fácil comprensión?						
5	¿Qué porcentaje de los items considera usted que siguen una secuencia lógica?						
6	¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?						

SUGERENCIAS:

.....

Fecha: **Validado por:**.....

Firma:



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA
HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

N°:

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE MARCHA FITOQUÍMICA
EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Moringa oleifera* Lam "MORINGA" EN RATAS INDUCIDAS A
INFLAMACIÓN AGUDA

A tener presente:

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Wagner	Alcaloides	--
2. Popoff	Alcaloides	--
3. Mayer	Alcaloide	+
4. Dragendorff	Alcaloide	+
5. Shinoda	Flavonoides	+
6. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
7. Gelatina + NaCl	Taninos	+
8. Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	--
9. Ninhidrina	Aminoácidos libres	--
10. Fehling A y Fehling B	Azúcares reductores	--

Leyenda: Presencia (+) Ausencia (-)



HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
FICHA DE OBSERVACION AD-HOC (EFECTO ANTIINFLAMATORIO)
EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Moringa oleifera* Lam "MORINGA" EN RATAS INDUCIDAS A
INFLAMACIÓN AGUDA

Luego de revisar el instrumento, es valiosa su opinión referida a lo siguiente:

Grupo	n	Valor medio de inflamación (mL)				Valor medio de inflamación durante 7 horas (mL)	Eficacia antiinflamatoria (%)
		1 h	3 h	5 h	7 h		
Solución Salina Fisiológica 0.9% (5 mL/Kg): 1mL	6						
Ibuprofeno (25 mg/Kg): 1mL	6						
Dexametasona (2 mg/Kg): 1mL	6						
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de moringa 200 mg/Kg: 0.8 mL	6						
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de moringa 300 mg/Kg: 1.2 mL	6						
Extracto Hidroalcohólico de las hojas de moringa 500 mg/Kg : 2 mL	6						

SUGERENCIAS

.....
.....
.....
.....

Fecha: Validado por:

Firma:

Anexo 7. Plethysmometer PANLAB. (Modelo de pletismómetro referencial al utilizado).

Panlab | **HARVARD**
APPARATUS

Plethysmometer

for evaluating paw volume during inflammation in rodents

PRODUCT OVERVIEW

The Digital Water Plethysmometer is designed to provide a highly useful tool in the measurement of small volume changes. This test is typically used to follow the evolution of the inflammatory response experimentally induced in rodents and to screen potential anti-inflammatory or anti-oedema properties of pharmacological substances.

Basically, the volume transducer is formed by two Perspex tubes interconnected and filled with a conductive solution and a electrode for each chamber. The water displacement produced by the immersion of the animal paw in the measuring tube is reflected into the second tube, inducing a change in the conductance between the two electrodes which generates an output signal indicating the volume displacement measured.

Key Features

- "Check solution" status button
- Conductive solution is easy/cheap to prepare/source
- Automatic zero adjustment
- Foot switch control
- Includes a volume transducer calibrator and tampon solution
- **New** optional Data Transfer software SeDaCom 2.0 (RS232/USB communication)

APPLICATIONS

Anti-inflammatory drug screening, Anti-oedema drug screening, Inflammation, Post-operative pain

PANLAB s.l.u. info@panlab.com - www.panlab.com

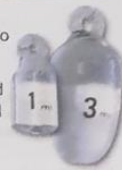
01 |

Leaflet
LF081

Plethysmometer

MAXIMAL RELIABILITY & USABILITY

- The current volume value remains in the digital display of the control unit until a new trial starts.
- The Control Unit is automatically zeroed between successive readings, thus making intermediate adjustments unnecessary.
- A "check solution" button allow ensuring the reliability of the conductive solution before starting the set of measurements.
- The conductive tampon solution is easy to prepare and cheap to source.
- A remote foot-switch controls the end point of the measurement allowing rapid hands-free experiments.



NEW SEDACOM version 2.0!

A very easy, convenient and cost-saving Data Transfer Software! The SeDaCom 2.0 version provides an ideal environment for visualizing the registered data on a computer and exporting them in a format that simplifies any further post-analysis processes.



- Keep an eye on your experiment by using our constantly updated runtime panels
- Save time in the post-analysis process with our new convenient tabular presentation of the data
- Additional fields are provided for improving the traceability of the data (subjects, groups, specific information)
- New direct exportation to Excel format (txt and html formats exportation also available)
- Bring your software and data everywhere with our new USB-flash key packaging

SPECIFICATIONS

Control Unit Dimensions	28 (W) x 28 (D) x 11 (H) cm	Resolution	Resolution 0.01 s steps
Stimulation Unit Dimensions	23 (W) x 22 (D) x 30 (H) cm	Material Composition	Clear methacrylate (cell), stainless steel (stand), platinum (electrode)
Starting	By panel key or pedal switch	Power Requirements	110V or 220V, 50/60Hz

ORDERING INFORMATION

CONTROL UNIT

LE7500	76-0220	Digital Water Plethysmometer (cell and calibrator provided separately)
--------	---------	--

CELL/ELECTRODE SYSTEM & CALIBRATOR

LE7504	76-0221	1 ml cell with electrode and 1 ml calibrator
LE7503	76-0223	3 ml cell with electrode and 3 ml calibrator
LE7505	76-0222	5 ml cell with electrode and 5 ml calibrator

DATA TRANSFER & SOFTWARE

SEDACOM V2.0	76-0406	SeDaCom V2.0 software for data transfer to a computer
CONRS232USB	76-0608	SeDaCom accessory - RS232/USB adapter
LE7000	76-0114	Thermal Printer

SPARE PARTS

LE75301	76-0225	1 ml calibrator for Plethysmometer
LE75303	76-0226	3 ml calibrator for Plethysmometer
LE75305	76-0436	5 ml calibrator for Plethysmometer
LE7506	76-0224	Platinum electrode

PANLAB s.l.u. info@panlab.com - www.panlab.com

Anexo 8. Valoración de Ibuprofeno

IBUPROFENO COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ibuprofeno deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ibuprofeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>

Reducir a polvo fino un Comprimido de Ibuprofeno, agregar aproximadamente 5 ml de cloroformo y agitar. Filtrar la mezcla y evaporar el filtrado con la ayuda de una corriente de nitrógeno hasta sequedad: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en aceite mineral del residuo obtenido se debe corresponder con el de Ibuprofeno SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención relativo al estándar interno obtenido a partir de la Preparación muestra se debe corresponder con el de la Preparación estándar.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: Solución reguladora de fosfato de pH 7,2; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con Medio, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 221 nm, comparando con una Solución estándar de concentración conocida de Ibuprofeno SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación

<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa - No más de 5,0 %. Los Comprimidos de Ibuprofeno con cubierta de gelatina están exentos de este requisito.

Límite de 4-isobutilacetofenona

Emplear los cromatogramas obtenidos a partir de la Preparación muestra y la Solución estándar de 4-isobutilacetofenona según se indica en Valoración y calcular el porcentaje de 4-isobutilacetofenona ($C_{11}H_{16}O$) en los Comprimidos de Ibuprofeno. No debe contener más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Fase móvil - Solución del estándar interno y Preparación estándar - Proceder según se indica en Valoración en Ibuprofeno.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución estándar de 4-isobutilacetofenona - Disolver una cantidad exactamente pesada de 4-isobutilacetofenona en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,6 mg por ml. Agregar 2,0 ml de esta solución madre a 100,0 ml de Solución del estándar interno y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 12 µg de 4-isobutilacetofenona por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ibuprofeno. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 1,2 g de ibuprofeno, transferir a un recipiente apropiado, agregar 100,0 ml de Solución del estándar interno y agitar durante 10 minutos. [NOTA: cuando los Comprimidos de Ibuprofeno están recubiertos, colocar un número de comprimidos, equivalente a no menos de 1,2 g de ibuprofeno en un recipiente, agregar un volumen exactamente medido de Solución del estándar interno para obtener una solución de aproximadamente 12 mg de ibuprofeno por ml, agregar alrededor de 15 perlas de vidrio y agitar bien hasta que los comprimidos se desintegren]. Centrifugar una porción de la suspensión obtenida y emplear la solución sobrenadante transparente.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la Preparación estándar y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para ibuprofeno y 1,0 para valerofenona; la resolución R entre los

Anexo 9. Valoración de Dexametasona.

DEXAMETASONA COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Dexametasona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la Preparación muestra se debe corresponder con el de la Preparación estándar.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (45:4).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dexametasona SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml.

Solución muestra - Evaporar 10 ml del extracto metanólico de los Comprimidos de Dexametasona obtenido según se indica en Preparación muestra en Valoración, en un baño de vapor hasta sequedad y disolver el residuo en 1 ml con cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la Solución muestra y 20 µl de la Solución estándar. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas según se indica en Valoración de un esteroide aislado previamente en 750. Valoración de Esteroides. Marcar el frente del solvente y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm; el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la Solución muestra se debe corresponder con el de la Solución estándar.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico diluido (1 en 100); 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la canti-

dad de $C_{22}H_{29}FO_3$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución estándar - Preparar según se indica en Preparación estándar en Valoración directa en 750. Valoración de Esteroides, empleando Dexametasona SR-FA.

Solución muestra - Extraer cada alícuota filtrada con tres porciones de 15 ml de cloroformo, equivalente a 200 µg de dexametasona, evaporar los extractos cloroformicos combinados en un baño de vapor hasta sequedad, enfriar y disolver el residuo en 20 ml de alcohol.

Procedimiento - Proceder según se indica en Procedimiento en Valoración directa en 750. Valoración de Esteroides, excepto que se debe dejar reposar en la oscuridad durante 45 minutos.

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_3$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución estándar - Preparar según se indica en Preparación estándar en Valoración directa en 750. Valoración de Esteroides, empleando Dexametasona SR-FA.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Dexametasona a una ampolla de decantación con 15 ml de agua y agitar por rotación hasta desintegrarlo completamente. Extraer con cuatro porciones de 10 ml de cloroformo, filtrando cada porción a través de una torunda de algodón previamente lavada con cloroformo en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir un volumen de esta solución, equivalente a 200 µg de dexametasona, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 50 ml, evaporar el cloroformo en un baño de vapor hasta sequedad, enfriar y disolver el residuo en 20,0 ml de alcohol. Emplear esta solución donde se especifica la Preparación muestra en Procedimiento.

Procedimiento - Proceder según se indica en Procedimiento en Valoración directa en 750. Valoración de Esteroides, excepto que se debe dejar reposar en la oscuridad durante 45 minutos. Calcular la cantidad total de esteroides como $C_{22}H_{29}FO_3$ en los Comprimidos de Dexametasona.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Anexo 10. Valoración de Cloruro de Sodio.

SODIO, CLORURO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Cloruro de Sodio es una solución estéril de Cloruro de Sodio en Agua para Inyectables, esterilizada en su envase final y envasada en envases monodosis no mayores a 1 litro. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para Sodio <410> y Cloruro <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0.

Límite de hierro <580>

Diluir 5,0 ml de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio con agua hasta 45 ml y agregar 2 ml de ácido clorhídrico. El límite es 2 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Transferir un volumen de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio, equivalente a 1,0 g de cloruro de sodio, en un vaso de precipitados, si fuera necesario evaporar hasta un volumen de aproximadamente 20 ml. Agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir a 25 ml con agua. Proceder según se indica en Método I, excepto que se debe emplear 1 ml de solución estándar de plomo (10 ppm) en la preparación estándar y en la preparación control. El límite es 0,001 %, en base a la cantidad de cloruro de sodio.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe cumplir con los requisitos. Cuando la concentración de la Solución Inyectable de Cloruro de Sodio esté comprendida entre 0,5 y 0,9 % de cloruro de sodio no debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml. Cuando la concentración de la Solución Inyectable de Cloruro de Sodio esté comprendida entre 3,0 y 24,3 % de cloruro de sodio no debe contener más de 3,6 Unidades de Endotoxina por ml.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio, equivalente a 50 mg de cloruro de sodio, a un erlenmeyer y agregar agua, si fuera necesario, hasta aproximadamente 50 ml. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. Volumetría). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl.

Anexo 11. Testimonios fotográficos.



Recolección de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa) . Ciudad de Piura.



Selección de las hojas.

Molienda

Pesado de la molienda 1000 g

Foto 1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa). Recolección, selección, secado y molienda de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).



Alcohol de 70° para la maceración de las hojas secas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).



Maceración la molienda seca de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa), en un recipiente ámbar durante 10 días.

Foto 2. Preparación del macerado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moriga oleifera* Lam (Moringa).



Foto 3. Secado mediante plato calefactor a 40 °C del macerado del extracto hidroalcohólico de la hojas de *Moringa oleifera* Lam (Moringa).



Foto 4. Edema o inflamación aguda en pata derecha de la rata.

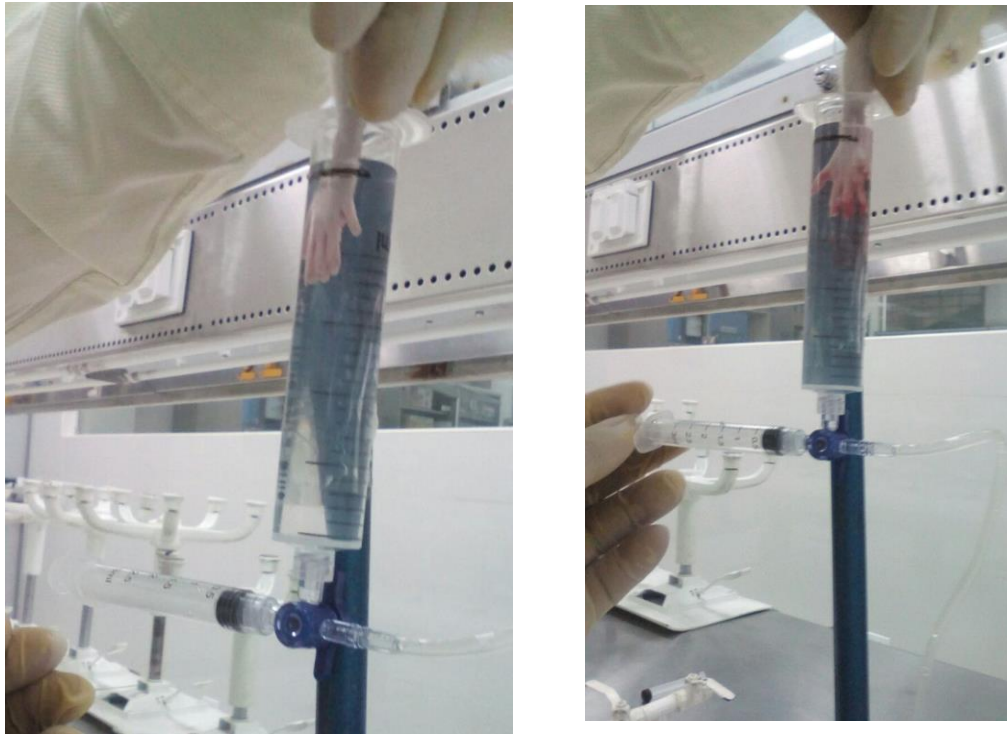


Foto 5. Medición del Edema o inflamación aguda en pata de la rata.

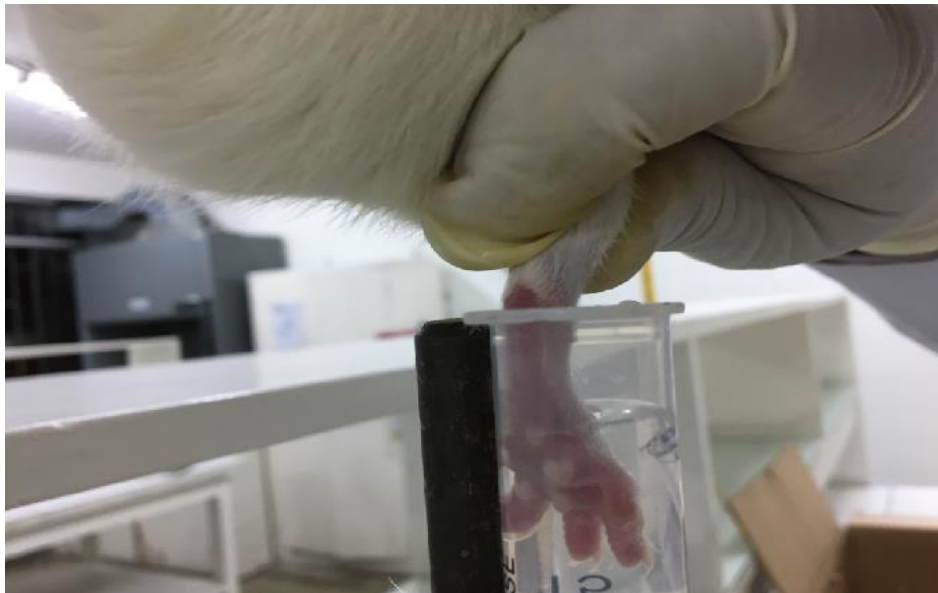


Foto 6. Medida de volumen de inflamación con pleletismómetro manual en pata de la rata.



Foto 7. Preparación de la solución de Ibuprofeno 25 mg/Kg en 20 mL.

Laboratorios Naturales y Genéricos S.A. Núm. Lote: 1114898.



Foto 8. Solución de Ibuprofeno 5mg/ mL Sol. 20 mL

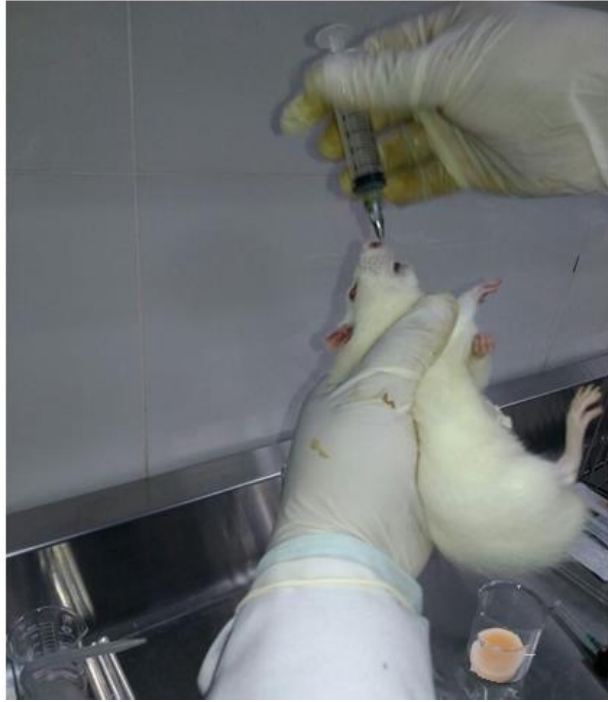


Foto 9. Administración vía oral de Solución de Ibuprofeno 5 mg /1 mL



Foto 10. Preparación de la solución de Dexametasona 2 mg. Sol 20 mL
Laboratorio FARMINDUSTRIA S.A. Núm. De lote: 10945418.



Foto 11. Solución de Dexametasona 0.4 mg/ 1mL.



Foto 12. Administración de solución de Dexametasona 2 mg/ 1 mL.

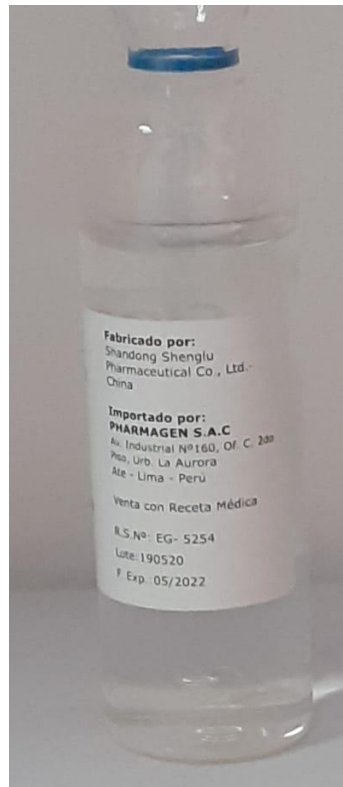
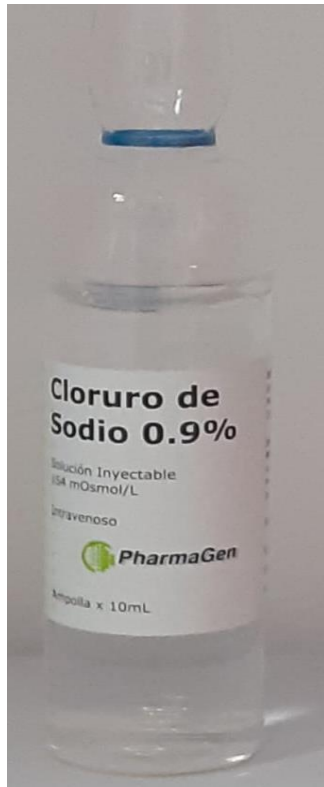


Foto 13. Ampolla de Cloruro de Sodio 0.9 % / 10 mL.

Lab. PharmaGen S.A.C. Núm de Lote: 190520. Fecha de vencimiento: 05/2022