

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,**  
**BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**“Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel  
de hojas de *Olea europaea* Linneo (olivo) en edema plantar  
inducido en animales de experimentación”**

**Trabajo de tesis presentado por los Bachilleres:**  
**Paredes Espinoza, Danny Eder Steve**  
**Polar Cárdenas, Sofía Elena**

**Para optar el Título Profesional de:**  
**Químico Farmacéutico**

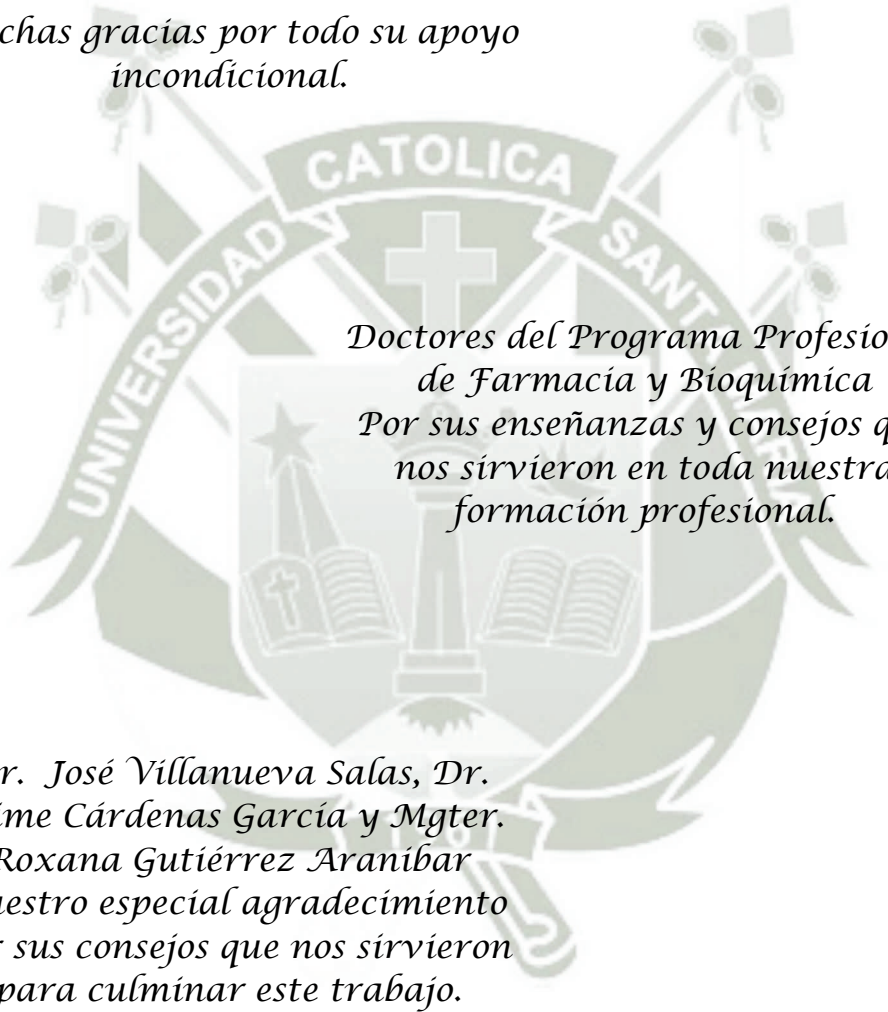
**Asesor:**  
**Mgter. Julitza Paredes Fuentes**

**AREQUIPA – PERÚ**  
**2016**

## AGRADECIMIENTOS

*Mgter. Juditza Paredes Fuentes,  
gran persona y una gran  
asesora.*

*Muchas gracias por todo su apoyo  
incondicional.*



*Doctores del Programa Profesional  
de Farmacia y Bioquímica  
Por sus enseñanzas y consejos que  
nos sirvieron en toda nuestra  
formación profesional.*

*Dr. José Villanueva Salas, Dr.  
Jaime Cárdenas García y Mgter.  
Roxana Gutiérrez Aranibar  
Nuestro especial agradecimiento  
por sus consejos que nos sirvieron  
para culminar este trabajo.*

*Sofía y Danny*

## DEDICATORIA

*Esta tesis es una parte de mi vida y comienzo de otras etapas por esto y más, la dedico a Dios por ser mi fuerza y templanza.*

*A mis padres, María Grímaneza y Rufo Roberto que con su sabiduría, experiencia y amor me dieron el mejor ejemplo para llegar a ser quien soy y lograr todas mis metas*

*A mis hermanos Harold y Pol por su apoyo y buenos deseos.*

*A mis Abuelitos Esther y Berto que con su amor y ternura me impulsaron a seguir adelante y superar los obstáculos y pruebas que se presentaron en mi vida*

*Danny*

*El presente trabajo se lo dedico a  
Dios en primer lugar por  
iluminar mi camino y guiarme  
en todo momento.*

*A mis padres Willy y Miriam por  
brindarme todo su apoyo  
incondicional y consejos durante mi  
formación profesional.*

*A mi hermano Willy Max por su  
apoyo y buenos deseos.*

*A mi querida hija Camila Belén por  
ser lo más grande y valioso que  
Dios me ha regalado quien es mi  
fuente de inspiración y la razón que  
me impulsa a salir adelante.*

*Sofia*

## ÍNDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
OBJETIVOS	11
HIPOTESIS	12
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	<b>13</b>
1. OLIVO ( <i>Olea europaea linneo</i> )	14
1.1 DESCRIPCION BOTANICA	14
1.2 HABITAT Y DISTRIBUCION	14
1.3 UBICACIÓN TAXONÓMICA	15
1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA	16
1.5 PROPIEDADES MEDICINALES ATRIBUIDAS	17
1.6 CULTIVO	17
2 INFLAMACIÓN	17
2.1 DEFINICION	17
2.2 CAUSAS	17
2.3 CLASES DE INFLAMACION	18
2.4 MEDIADORES QUÍMICOS	19
2.5 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS	21
3 GELES	21
3.1 TIPOS DE GELES	21
4 EXTRACCIÓN PRINCIPIOS ACTIVOS VEGETALES	22
4.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	23
4.2 CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS EXTRACTIVOS	25
<b>CAPITULO II: MATERIALES Y METODOS</b>	<b>26</b>
1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	27
2. DISEÑO EXPERIMENTAL	27
3. MATERIALES	28
3.1. MATERIAL BIOLÓGICO	28
3.1.1 Unidad Botánica	28
3.1.2 Unidad animal	28
3.2 MATERIAL DE LABORATORIO	28
3.2.1 MATERIAL DE VIDRIO	28
3.2.2 APARATOS Y EQUIPOS DE LABORATORIO	29

3.2.3 MATERIAL ANEXO	29
3.2.4 REACTIVOS	29
4. MÉTODOS	<b>30</b>
4.1 RECOLECCION Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL	30
4.1.1. RECOLECCIÓN	30
4.1.2 SELECCIÓN	30
4.1.3 ESTABILIZACIÓN	30
4.1.4 DESECACIÓN	31
4.1.5 TRITURACIÓN	31
4.2 MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	31
4.2.1 MÉTODO	31
4.2.2 FUNDAMENTO	31
4.2.3 PROCEDIMIENTO	32
4.3 DETERMINACION DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCION	33
4.3.1 MÉTODO	33
4.3.2 FUNDAMENTO	33
4.3.3 PROCEDIMIENTO	34
4.4 FORMULACIÓN DEL GEL	35
4.4.1 RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE	35
4.4.2 DESCRIPCIONES	35
4.5. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	36
4.5.1. Método	36
4.5.2. Fundamento	37
4.5.3. Procedimiento	37
5. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	38
5.1. Estadística descriptiva	38
5.1.1. Medidas de tendencia central	38
5.2. Estadística inferencial	40
5.2.1 ANOVA	40
5.2.2 Prueba HSD de Tukey	40
<b>CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>41</b>
1. OBTENCION DE LOS EXTRACTOS	42

2.	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS	43
3.	PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO DE OLIVO	44
	3.1. Fórmula	44
	3.2. Elaboración DEL GEL	44
4.	EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	45
	4.1 DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE INFLAMACION	47
	4.2 ANALISIS ESTADISTICO INFERENCIAL DE ANOVA Y TUKEY	49
	4.2.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO AL INICIO DEL EXPERIMENTO	49
	4.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO TRES HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO	51
	4.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO CINCO HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO	53
	4.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO SIETE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO	55
	4.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO NUEVE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO	57
	4.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO QUINCE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO	59
	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>61</b>
	<b>SUGERENCIAS</b>	<b>62</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>63</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>69</b>
	<b>ANEXO 1 : CONSTANCIA DE DETERMINACION TAXONOMICA</b>	<b>70</b>
	<b>ANEXO 2 : FORMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INFLAMACION</b>	<b>71</b>

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología Humana (H-201) y el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María, con el objetivo principal de evaluar el efecto antiinflamatorio de *Olea europea Linneo* (*Olivo*), con el extracto y gel elaborado con éste, a una concentración de 10% y 20% en animales de experimentación, mediante un modelo experimental de inducción de inflamación plantar mediante Carragenina al 1%.

El mismo extracto fue el complejo activo para la formulación de un medicamento herbario, en forma de gel conteniendo el extracto a una concentración del 1% y 2%, el gel obtenido fue de tipo hidrogel de buen aspecto y características aceptables.

Tanto el gel y el extracto se sometieron a una evaluación del probable efecto antiinflamatorio de las hojas de *Olea europea Linneo* (*Olivo*) en animales de experimentación. La inflamación se indujo mediante la administración de Carragenina en la zona plantar del animal; se tuvo como control positivo al gel de Diclofenaco al 1% (VOLTAREN). El volumen de la inflamación se midió en porcentaje de inflamación a través de Pletismómetro digital. Este valor fue fundamental para hallar el volumen de inflamación a distintos tiempos de medición. Luego de aplicar los

estadígrafos (análisis de varianza y prueba de Tukey) se concluyó que solo el gel con extracto de *Olea europea Linneo (Olivo)* al 2 % tiene una eficacia antiinflamatoria estadísticamente similar al gel de Diclofenaco al 1%; por su parte el grupo tratado con el extracto puro, aplicado directamente sobre el edema plantar inducido en pata de rata tiene una eficacia que en términos de volumen de inflamación (porcentaje de inflamación) ocupa un modesto lugar intermedio entre los grupos tratados con gel de *Olea europea Linneo (Olivo)* y grupo control, y estadísticamente diferente (y con un valor inferior) al grupo tratado con Diclofenaco al 1%.



## ABSTRACT

This research was conducted at the Laboratory of Human Physiology (H-201) and the Vivarium of the Catholic University of Santa María, with the main objective to evaluate the anti-inflammatory effect *Linnaeus Olea europea* (Olive) with the extract and gel made from it, at a concentration of 1% and 2% in experimental animals by an experimental model of inflammation induced by carrageenan plant.

The same extract was active complex for the formulation of a herbal medicine in the form of gel containing the extract at a concentration of 10% and 20%, the gel obtained hydrogel was good appearance and acceptable characteristics.

Both the gel and the extract subjected to assess the probable antiinflammatory effect leaves *Linnaeus Olea europea* (Olive) in experimental animals. Inflammation is induced by administration of carrageenan into the plantar of the animal; I was taken as a positive control to gel 1% diclofenac (VOLTAREN). The volume of swelling is measured in percentage of inflammation through digital plethysmometer. This value was critical to find the volume of inflammation at different measurement times. After applying statisticians (ANOVA and Tukey) it concluded that only gel extract *Linnaeus Olea europea* (Olive) 2 % have anti-inflammatory efficacy statistically similar to diclofenac gel 1%; For his part, treated the pure extract, applied directly to the plant group edema induced rat paw has efficacy in terms of volume of inflammation (swelling percentage) unassuming middle ground between the groups treated with gel *Olea European Linnaeus* (Olive) and control group, and statistically different (and with a lower value) to the group treated with 1% diclofenac.

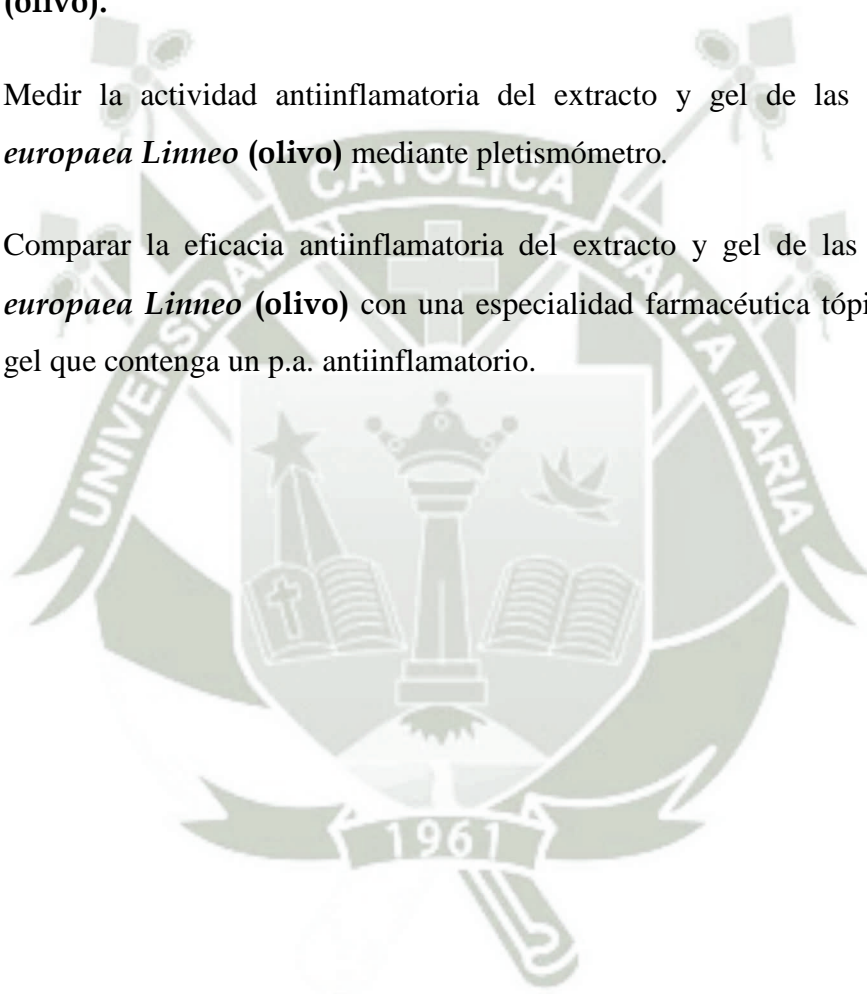
## INTRODUCCIÓN

El clásico texto de Farmacia de Remington define al profesional Químico Farmacéutico como “Perito de fármacos”, se entiende de esta definición que el farmacéutico es el entendido del medicamento, toxico y alimento, es decir, es el profesional que posee conocimientos relacionados a las sustancias medicinales utilizadas en terapéutica humana, además, el término medicamentos no se restringe a las sustancias alopáticas que utiliza la medicina convencional, sino también y sobre todo las de origen natural. En efecto, el Químico Farmacéutico es el único profesional competente e idóneo llamado a estudiar las especies vegetales que tienen usos medicinales, él es el que aplica los conocimientos adquiridos para validar el saber popular, utilizando el método científico, desde la adquisición del conocimiento que sobre la planta se dice, hasta su evaluación clínica.

Entre las plantas medicinales que existen en nuestro medio y que la gente utiliza con fines medicinales se encuentra *Olea europea Linneo* o comúnmente denominada “OLIVO”, que la gente atribuye propiedades antiinflamatorias, sin embargo, a propósito del *Olea europea Linneo (Olivo)* no se disponen de trabajos de investigación que refrenden este uso, de allí que los autores de la presente investigación como futuros profesionales Químicos Farmacéuticos encontraron la motivación a través de este problema para no solo demostrar todos sus saberes y competencias adquiridas durante su formación, para evaluar científicamente a esta especie vegetal medicinal, sino además contribuir de forma inicial con el conocimiento de *Olea europea Linneo (Olivo)*, a fin de incrementar la información acerca de esta planta medicinal.

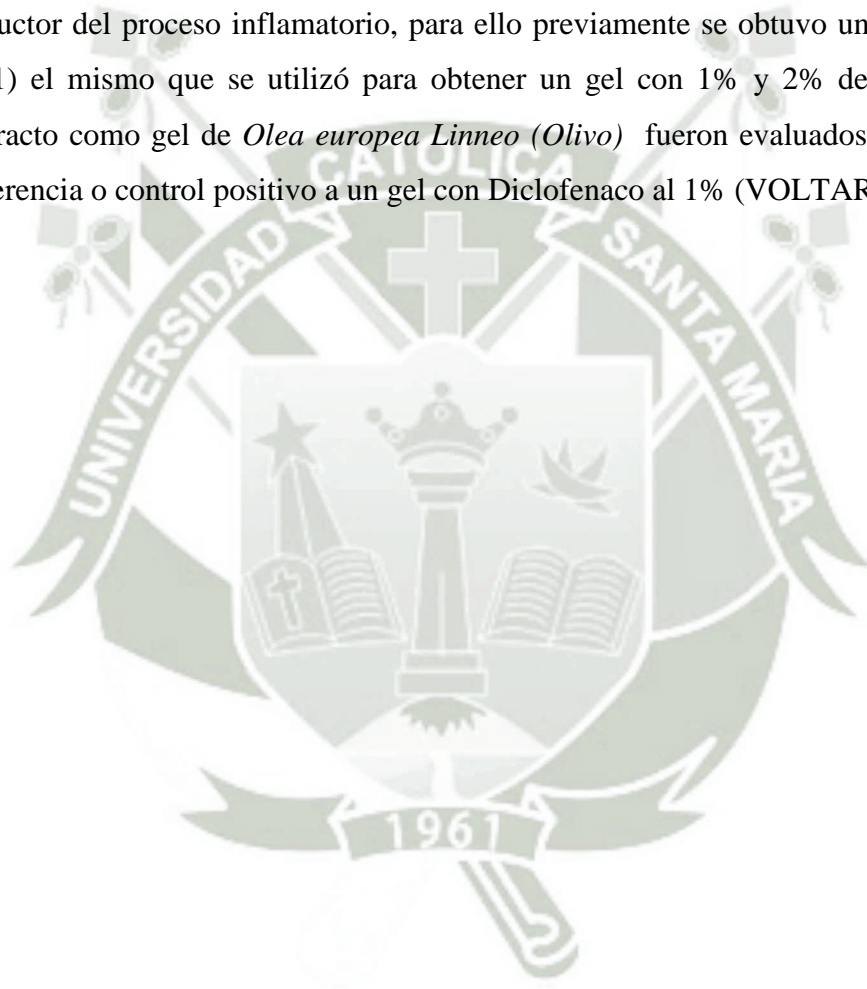
## OBJETIVOS

- Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* Linneo (**olivo**).
- Formular un gel con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* Linneo (**olivo**).
- Medir la actividad antiinflamatoria del extracto y gel de las hojas de *Olea europaea* Linneo (**olivo**) mediante pletismómetro.
- Comparar la eficacia antiinflamatoria del extracto y gel de las hojas de *Olea europaea* Linneo (**olivo**) con una especialidad farmacéutica tópica en forma de gel que contenga un p.a. antiinflamatorio.



## HIPOTESIS

En el presente estudio que tenemos a bien introducir al lector, se indagó sobre la actividad antiinflamatoria del *Olea europea Linneo (Olivo)* en animales de experimentación, utilizando un modelo experimental que utiliza Carragenina como inductor del proceso inflamatorio, para ello previamente se obtuvo un extracto fluido (1:1) el mismo que se utilizó para obtener un gel con 1% y 2% de extracto, tanto extracto como gel de *Olea europea Linneo (Olivo)* fueron evaluados teniendo como referencia o control positivo a un gel con Diclofenaco al 1% (VOLTAREN).





## **CAPÍTULO I**

### **MARCO TEÓRICO**

## 1 OLIVO (*Olea europaea* Linneo)

### 1.1 DESCRIPCION BOTANICA

Según el sistema de clasificación botánico, el olivo pertenece a la familia Oleaceae, que comprende entre 20 y 29 géneros principales<sup>19; 43</sup>, formando parte a su vez del género *Olea*, que incluye a más de 30 especies<sup>66</sup>, siendo la mayoría arbustos o árboles y donde la única especie con fruto comestible es *Olea europaea*, a la cual pertenece el olivo cultivado.<sup>19</sup>

Genéticamente es un árbol de tamaño mediano que en casos extremos alcanza 10 metros de altura. Posee un tronco erecto de color gris claro, lleno de protuberancias y fisuras, especialmente a medida que se hace mayor, puesto que de joven suele tener la corteza lisa<sup>38</sup>.

### 1.2 HABITAT Y DISTRIBUCION

El olivo es un árbol de origen mediterráneo, de clima subtropical seco, está muy adaptado a condiciones ambientales extremas como sequía, elevada temperatura y aunque requiere suelos aireados, puede adaptarse a muchos otros y es resistente a temperaturas inferiores en algunos grados bajo 0°C. Su tamaño y su potencial para dar fruto están íntimamente relacionados con las condiciones ambientales<sup>66</sup>. En climas fríos los árboles suelen ser más pequeños que en condiciones de cultivo más cálidas, siempre que el agua no sea un factor limitante<sup>19; 43</sup>

Tanto el vigor, como el crecimiento vegetativo anual y el tamaño del fruto dependen mucho del nivel de producción, de modo que en años con producción elevada el crecimiento de brotes jóvenes está limitado<sup>17</sup>. Las flores son muy pequeñas y están reunidas en inflorescencias. Sus frutos son las olivas, que son drupas de forma ovoidea, en cuyo interior aparece un solo hueso. Según la variedad, presentan tamaños diferentes, aunque

generalmente suelen oscilar entre 1,5 y 3 cm. Al principio son de color verde, por su elevado contenido en clorofila, pero a medida que maduran, se vuelven negros debido a la formación de antocianinas.<sup>19; 38</sup>.

Tienen un sabor penetrante, fuerte y por lo general, se destinan para elaboración de aceituna de mesa y producción de aceite <sup>38</sup>. El olivo requiere intensidades de luz elevadas para la diferenciación de los botones florales y el desarrollo de los brotes, por lo que en la mayoría de los cultivares el fruto se localiza en la superficie de la copa <sup>61</sup>.

### 1.3 UBICACIÓN TAXONÓMICA

<b>Tipo</b>	: Espermatofitas
<b>Clase</b>	: Dicotiledóneas
<b>Orden</b>	: Ligustales
<b>Familia</b>	: Oleáceas
<b>Género</b>	: Olea
<b>Especie</b>	: Olea europaea Linneo
<b>Nombres comunes</b>	: “Olivo” <sup>37</sup>



**Figura N°1:**  
*Olea europaea* Linneo (OLIVO)

## 1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las hojas de olivo se caracterizan por la presencia de un gran número de componentes, como sales minerales, secoiridoides, flavonoides, compuestos terpénicos y compuestos liposolubles<sup>47</sup>.

Entre los secoiridoides se destaca el oleuropeósido, también llamado oleuropeína<sup>47; 6</sup>, un iridoide amargo, responsable en gran medida de la actividad de las hojas. Se trata de una sustancia característica y presente en todos los órganos del olivo<sup>48,54</sup>, su contenido en las hojas es muy alto, alrededor de 60-90 mg/g<sup>23</sup>, representa el principal compuesto estudiado y sirve como marcador de calidad de su valor terapéutico<sup>26; 27</sup>. Este se hidroliza por acción enzimática (beta-glucosidasa) en tirosol e hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol)<sup>38</sup>.

Además, se han aislado e identificado por hidrólisis otros iridoide, presentes en menor cantidad. Estos compuestos incluyen el 1,1-dimetil-oleuropeósido<sup>38</sup>, el diéster metílico del oleósido<sup>47</sup>, el ligustrósido<sup>50</sup>, verbascósido<sup>20,58</sup>, el oleurósido un isómero de oleuropeina<sup>34</sup> y secoiridoides no glucosídicos<sup>24</sup>.

Las hojas de olivo contienen asimismo una cantidad significativa de flavonoides, entre ellos, rutina, apigenina y luteolina, identificados por HPLC<sup>15,29</sup>. Se ha evidenciado también la presencia de compuestos terpénicos, como la alfa-amirina<sup>45</sup> y ácidos terpénicos<sup>62</sup> tales como el ácido maslínico<sup>45</sup> y el ácido oleanólico<sup>62; 5</sup>, este último encontrado en toda la planta y particularmente en las hojas, en una proporción aproximada del 3% en peso<sup>1</sup>. Otros compuestos, productos directos de la fotosíntesis, son algunos hidratos de carbono como el manitol y ciertos oligosacáridos<sup>21;60</sup>.

## 1.5 PROPIEDADES MEDICINALES ATRIBUIDAS

Al olivo se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, febrífugas, diuréticas, anti arrítmicas, laxantes, entre otras.

## 1.6 CULTIVO

Se practica su cultivo.<sup>51</sup>

## 2 INFLAMACIÓN

### 2.1 DEFINICION

La inflamación es una reacción compleja, que involucra numerosos sistemas biológicos. Esta parte estará centrada en la descripción de varios principios generales, que permiten establecer una definición de inflamación aplicable a la mayoría de los casos. Así, la inflamación puede definirse como una reacción del tejido conjuntivo vascular, generada por todos los agentes etiológicos conocidos, estereotipada desde el punto de vista morfológico, mediada principalmente por agentes químicos, que cursa clínicamente con manifestaciones locales y un mayor o menor número de manifestaciones sistémicas, en cuya génesis intervienen sistemas amplificadores y redundantes, sometida a su vez a un importante control tanto local como general y modificada por factores individuales.<sup>11</sup>

### 2.2 CAUSAS

- Agentes biológicos: bacterias, parásitos, hongos.
- Agentes físicos: radiaciones, frío, calor, ultravioletas.
- Agentes químicos: venenos, toxinas.
- Traumatismos y cuerpos extraños.
- Alteraciones inmunitarias: como por ejemplo las respuestas de hipersensibilidad.

## 2.3 CLASES DE INFLAMACION

Se clasifica la inflamación según la persistencia de la lesión, sus características clínicas y la índole de la respuesta inflamatoria en aguda y crónica<sup>31</sup>

### 2.3.1 INFLAMACIÓN AGUDA

Es la reacción inmediata que se produce frente al agente lesivo. Debido a que los dos principales factores defensivos frente a los microorganismos (anticuerpo y leucocitos) son transportados normalmente por la sangre, no es raro que los fenómenos vasculares intervengan de manera importante en la inflamación.

La respuesta inflamatoria se produce en el tejido conjuntivo, hacia el cual filtran el plasma y los elementos formes de la sangre, desde los vasos sanguíneos lesionados por la agresión o desde los vasos que se hacen más permeables en respuesta a la lesión.<sup>13,16, 65</sup>

Se produce así, el enrojecimiento (eritema) por la dilatación de los vasos, el hinchamiento (edema) por el escape de líquido a los tejidos blandos y el endurecimiento por la acumulación de los líquidos y las células.<sup>13,16, 65</sup>

Estos fenómenos desembocan en la pérdida de la capacidad normal de los vasos sanguíneos para retener en su interior las células y los líquidos; pero estos cambios no significan obligatoriamente una alteración estructural del vaso.<sup>13,16, 65</sup>

Los neutrófilos son los componentes más numerosos en este tipo de inflamación y se encargan de la fagocitosis de las bacterias y de otros microorganismos extraños. Los monocitos también penetran al tejido conjuntivo durante la inflamación y se transforman en macrófagos que fagocitan las células y los restos tisulares, la fibrina, las bacterias remanentes e incluso los neutrófilos utilizados. Los linfocitos, los

eosinófilos y los basófilos se relacionan con los aspectos inmunológicos del proceso inflamatorio.<sup>13,16, 65</sup>.

### **2.3.2. INFLAMACIÓN CRÓNICA**

La inflamación crónica dura semanas, meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo.

Se debe a la persistencia del agente inflamatorio o a agentes inflamatorios que desde el principio producen inflamación crónica (formas primarias).

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas: a) progresión de una inflamación aguda; b) episodios recurrentes de inflamación aguda y c) inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc.)<sup>13,16, 31</sup>

## **2.4 MEDIADORES QUÍMICOS**

La influencia de los mediadores químicos sobre el proceso inflamatorio es un tema de intenso estudio. Los mediadores se originan del plasma o de las células, la mayor parte de ellos realizan su actividad biológica mediante unión a receptores.

Un mediador químico puede actuar sobre uno o múltiples tipos de células dianas, la duración de su acción es corta y la mayor parte de ellos pueden producir efectos perjudiciales.<sup>16, 65, 64</sup>

### **2.4.1. AMINAS VASOACTIVAS**

Histamina y serotonina son las dos aminas vasoactivas llamadas así por su importante acción sobre los vasos.<sup>13, 64</sup>

- **Histamina:** se encuentra en células cebadas, basófilos y plaquetas .La histamina es el gran mediador de la fase aguda, sus efectos son:
  - Vasodilatación de arteriolas y vénulas.<sup>13, 64</sup>
  - Alteración de la permeabilidad en las vénulas.<sup>13, 64</sup>
- **Serotonina:** almacenada en plaquetas y células neuroendocrinas. Su liberación se produce gracias al factor activador de plaquetas (PAF). Sus acciones son muy semejantes a las de la histamina.<sup>13, 65</sup>

#### 2.4.2 METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

- **Prostaglandinas:** PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> que producen vasodilatación, fiebre y dolor.<sup>13, 64</sup>
- **Tromboxanos A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>):** producen agregación plaquetaria y vasoconstricción.<sup>13, 64</sup>
- **Leucotrienos LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>2</sub> y LTE<sub>4</sub>:** producen vasoconstricción, aumento de la permeabilidad y broncoespasmos.<sup>13, 64</sup>
- **Leucotrieno B<sub>4</sub>:** que promueve adherencia leucocitaria y quimiotaxis.<sup>13, 64</sup>

#### 2.4.3 MOLÉCULAS DE ADHERENCIA

- Selectinas.
- Inmunoglobulinas.
- Integrinas.

Los mediadores inflamatorios activan a las selectinas, que se encuentran almacenados en gránulos de Weibel-Palade de las células endoteliales y se redistribuye rápidamente hacia la superficie celular.

La adhesión firme de los leucocitos al endotelio se produce gracias al cambio conformacional de las integrinas.<sup>11</sup>

## 2.5 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los fármacos con actividad antiinflamatoria están constituidos por dos grandes grupos:

- Antiinflamatorios no esteroides (AINES): cuyo mecanismo de acción está ligado a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, específicamente por la inactivación de la ciclo-oxigenasa, a su vez se clasifican por la diferente afinidad hacia las isoformas de la COX.
- Antiinflamatorios esteroides (AIES): el efecto antiinflamatorio de estos fármacos más bien está íntimamente vinculado a la acción inmunosupresora.<sup>4</sup>

## 3 GELES

Los geles son sistemas de dispersión, semisólidos, habitualmente transparentes, uniformes, fácilmente deformados, que constan como mínimo de dos componentes. La fase dispersante que es un líquido, y la fase dispersa o gelificante, que habitualmente es un polímero generador de estructura. Esta fase dispersa suele formar con la dispersante al inicio una solución coloidal.<sup>52, 6</sup>

### 3.1 TIPOS DE GELES

La definición de la BP establece que los geles consisten en líquidos gelificados mediante agentes gelificantes adecuados, e indica que existen dos clases, a saber:<sup>52, 63</sup>

#### 3.1.1. Geles Hidrófobos

Las bases de los geles hidrófobos (oleogeles) por lo general consisten en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con sílica coloidal o jabones de aluminio o zinc<sup>52, 63</sup>.

### 3.1.2. Geles Hidrófilos

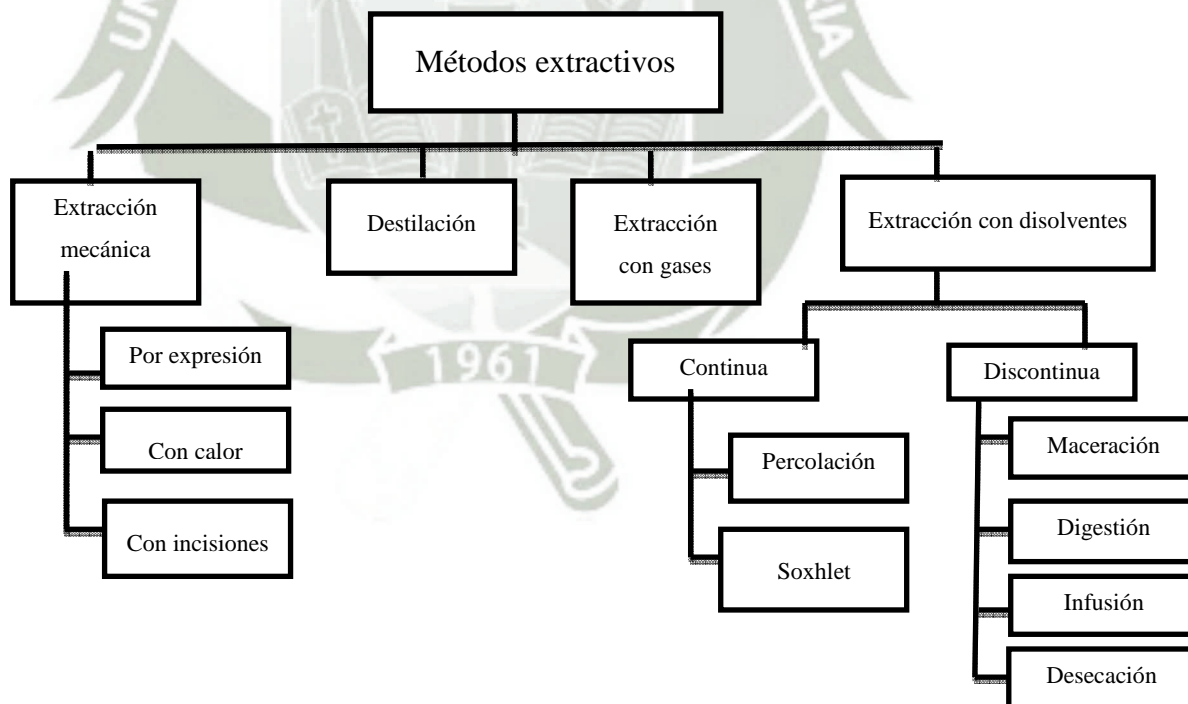
Las bases de los geles hidrófilos (hidrogeles) por lo general consisten en agua, glicerol o propilenglicol gelificados con agentes gelificantes como tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros de carboxivinilo y silicatos de magnesio y aluminio<sup>52, 63</sup>.

## 4 EXTRACCIÓN PRINCIPIOS ACTIVOS VEGETALES

La extracción implica la separación de fracciones medicamento activas, de componentes inactivos o inertes presentes en tejidos vegetales.<sup>49</sup>

Hay varios métodos extractivos: (Cuadro N<sup>o</sup> 1)

**Cuadro N<sup>o</sup> 1**  
**MÉTODOS EXTRACTIVOS**



## 4.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

### 4.1.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA

Permite tener principios activos disueltos en fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. Este tipo de extracción se da por expresión, con calor o mediante incisiones.<sup>19,53</sup>

### 4.1.2. DESTILACIÓN

Se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, para poder separar los componentes volátiles.

La destilación permite obtener esencias de las drogas, además este método utiliza calor por lo que solo es aplicable a principios activos termoestables.<sup>19</sup>

### 4.1.3. EXTRACCIÓN CON GASES

Se trabaja con dispositivos especiales, en los cuales es posible controlar la presión y la temperatura superiores a valores críticos. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono y el butano.<sup>53</sup>

### 4.1.4. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principales activos deben pasar de la droga al disolvente de forma que se obtenga un extracto líquido.<sup>19,53</sup>

Se debe tener en cuenta los siguientes factores: características de la droga (drogas desecadas, grado de división adecuado), naturaleza del disolvente (polaridad), temperatura (principios activos termolábiles) tiempo de contacto entre la droga y el disolvente, control de difusión celular.

#### **4.1.4.1. EXTRACCIÓN DISCONTINUA O SIMULTÁNEA**

La totalidad de la droga conecta con el disolvente y la difusión de los principios activos se realizará en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio.

##### **4.1.4.1.1. MACERACIÓN**

Consiste en poner contacto la droga seca y triturada con el disolvente (agua, glicerina, mezclas hidroalcohólicas) a temperatura ambiente durante varias horas o días.<sup>23</sup>

##### **4.1.4.1.2. DIGESTIÓN**

Método similar a la maceración pero se trabaja a temperaturas elevadas<sup>23</sup>

##### **4.1.4.1.3. INFUSIÓN**

Se trabaja con un disolvente (agua) a temperaturas próximas a ebullición durante uno o dos minutos hasta 30 minutos aproximadamente.<sup>23</sup>

##### **4.1.4.1.4. DECOCCIÓN O COCIMIENTO**

Se pone en contacto la droga con el disolvente (agua) y se lleva a temperatura de ebullición durante 15 a 30 minutos.<sup>19.</sup>

#### **4.1.4.2. EXTRACCIÓN CONTINUA O PROGRESIVA**

##### **4.1.4.2.1. PERCOLACIÓN**

Se realiza a temperatura ambiente, donde en un recipiente troncocónico o en forma de columna se coloca la droga para que entre en contacto permanece con el disolvente, el cual ayudado por la gravedad gotea x la parte superior de la

columna, atraviesa la zona donde se encuentra la droga y por la parte inferior se colocan líquidos extractivos.<sup>53</sup>

#### 4.1.4.2.2. SOXHLET

Se basa en un sistema de reflujo que garantiza la provisión del disolvente puro. Para ello se requiere un extractor soxhlet y una fuente de calor que permita la ebullición del disolvente. El disolvente orgánico se va reciclando durante el proceso mientras el principio activo se va concentrando en el balón de destilación<sup>51, 53</sup>.

El extractor soxhlet garantiza un flujo continuo de disolvente a través de la muestra<sup>51, 53</sup>.

### 4.2 CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS EXTRACTIVOS

#### – AL VACIO

Utilizando un rota vapor, se trabaja a temperaturas inferiores a 40°C y en ausencia de oxígeno. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con disolventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas.<sup>19</sup>

#### – LIOFILIZACIÓN

Consiste en eliminar el disolvente mediante una congelación a temperatura muy baja seguido de una sublimación del disolvente que pasa directamente del estado sólido al vapor<sup>19; 53</sup>.



## 1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La elaboración del extracto, formulación del gel y el estudio en animales de experimentación fueron realizados en el laboratorio de Farmacognosia (H-203) de la Universidad Católica de Santa María.

## 2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 30 animales de experimentación, los que fueron divididos en cuatro grupos. Como se detalla a continuación: (Cuadro N° 2)

**Cuadro N° 2**  
**DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS**

Grupo	Nominación	N° animales	Tratamiento
GE <sub>1</sub>	Grupo experimental 1	5	Aplicación tópica del extracto de <i>Olea europaea</i> Linneo al 10%
GE <sub>2</sub>	Grupo experimental 2	5	Aplicación tópica del extracto de <i>Olea europaea</i> Linneo al 20%
GE <sub>3</sub>	Grupo experimental 3	5	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Olea europaea</i> Linneo al 1 %
GE <sub>4</sub>	Grupo experimental 4	5	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Olea europaea</i> Linneo al 2 %
GC	Grupo control	5	Pata inflamada sin ningún tratamiento (gel base).
GF	Grupo farmacológico	5	Aplicación tópica de diclofenaco al 1% en gel.

Fuente: *Elaboración propia*

### 3. MATERIALES

#### 3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

##### 3.1.1 Unidad Botánica

Para el presente trabajo de investigación se utilizaron las hojas secas de *Olea europaea* Linneo (OLIVO). El material fue autenticado en el Herbarium Arequipense (HUSA) ubicado en la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (Anexo 01)

##### 3.1.2 Unidad animal

La unidad animal estuvo conformada por un grupo de 30 animales de experimentación de la raza Holtzman, especie *Rattus rattus* hembras y machos, de 250-350 gramos de peso con una edad de 2 a 4 meses, aproximadamente. Las cuales fueron sometidas a un proceso de adaptación que consistió en estandarizar las condiciones ambientales y alimenticias y evitar factores externos que sean impedimento para una óptima investigación.

Las ratas fueron distribuidas en 2 grupos iniciales: etapa preliminar (8 ratas, distribuidas en 4 subgrupos de 2 ratas cada uno) y la etapa experimental (30 ratas, distribuidas en 6 grupos de 5 ratas cada uno).

#### 3.2 MATERIAL DE LABORATORIO

##### 3.2.1 MATERIAL DE VIDRIO

- Baguetas (LBT)
- Capilares sin heparina
- Pipetas graduadas de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Probeta graduada de: 50 y 100ml (LBT)
- Vasos de precipitado: 50, 100, 250ml (LBT)
- Termómetros (LBT)
- Tubos de ensayo (PIREX)

### 3.2.2 APARATOS Y EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza analítica Ohaus Pionner
- Equipo de Soxhlet
- Equipo Rotavapor BUCH Switerland R-114
- Estufa Memmert 854 Shwabach- Germany
- Pletismometro Digital LE7500

### 3.2.3 MATERIAL ANEXO

- Algodón estéril
- Cocina eléctrica
- Espátulas
- Frascos de vidrio color ambar
- Guantes quirúrgicos
- Hilo
- Jaulas metálicas para ratas
- Mortero
- Olla metálica
- Papel filtro
- Potes
- Soporte universal
- Tijera

### 3.2.4 REACTIVOS

- Acetato de etilo Q.P. (J.T. BAKER)
- Acritamer
- Agua destilada
- Carragenina
- Etanol DELTA QUIMICA
- Metanol Q.P. (MERCK)
- Metilparabeno NEQUINSA

- Propilenglicol USP
- Propilparabeno NEQUINSA
- Triton
- Trietanolamina Q.P. (MERCK)

## 4. MÉTODOS

### 4.1 RECOLECCION Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

#### 4.1.1. RECOLECCIÓN

Las muestras fueron obtenidas de la ciudad de Ilo en el departamento de Moquegua, trasladada a la ciudad de Arequipa para su identificación taxonómica en la facultad de la Universidad Nacional de San Agustín.

#### 4.1.2 SELECCIÓN

Una vez recolectados e identificados taxonómicamente las hojas de *Olea europaea* Linneo (OLIVO) se procedió a la selección del material colectado, prefiriéndose las hojas que se encontraban en buen estado, siendo descartadas las que se encontraron marchitas, contaminadas con material extraño o que no correspondieran a la unidad vegetal.

#### 4.1.3 ESTABILIZACIÓN

Para evitar la degradación de las sustancias activas de *Olea europaea* Linneo (olivo) se estabilizó en seco, durante 7 días<sup>65, 59</sup>.

#### 4.1.4 DESECACIÓN

La desecación de la unidad vegetal se realizó mediante calor artificial mediante la estufa de desecación, previamente calentado a 50°C, en este ambiente permaneció durante 24 horas<sup>65, 59</sup>.

#### 4.1.5 TRITURACIÓN

La trituración se realizó en un mortero, hasta la obtención de un polvo con un grado de trituración moderado, no llegando hasta el estado de polvo fino.

### 4.2 MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

#### 4.2.1 MÉTODO

Extracción por equipo Soxhlet (Continuo)

#### 4.2.2 FUNDAMENTO

Es un sistema de extracción sólido-líquido en el que la extracción se realiza en un aparato que consta de un matraz de fondo plano, un cuerpo extractor y un refrigerante. En el cuerpo extractor se coloca el disolvente orgánico y la droga, generalmente envuelta en un material poroso que permita el contacto con el disolvente. En el matraz de fondo plano se coloca el disolvente orgánico, se lleva a ebullición y los vapores del disolvente ascienden por el tubo lateral y llegan al refrigerante donde condensan y caen sobre la droga situada en el cuerpo extractor. Cuando el cuerpo extractor se llena de líquido extractivo, éste se vacía por el sifón lateral interno y desemboca en el matraz inferior. El disolvente orgánico se va reciclando durante el proceso mientras que los principios activos se van concentrando en el matraz inferior<sup>51,53</sup>.

### 4.2.3 PROCEDIMIENTO

- Los materiales a utilizar se lavaron con abundante agua y detergente para hacerlo secar a medio ambiente.
- Se pesó 10 g de la muestra pulverizada, la cual se preparó en papel filtro previamente pesado y se colocó en la cámara de extracción de equipo Soxhlet. (Fig.Nº2).



**Figura N°2:  
Equipo Soxhlet**

- Se utilizó 2 solventes para determinar cuál de ellos extrae mayor cantidad de principio activo, para este caso se utilizó Acetato de Etilo y Etanol.
- Una vez iniciada la extracción y al cabo de 3 horas se retiró el balón y se llevó a rotavapor hasta un volumen de 10 ml aproximadamente (Fig. N°3), luego se llevó a baño María hasta desecación, obteniendo con ambos solventes un peso el cual nos sirvió para tener un dato de rendimiento.
- Para el caso del Acetato de Etilo se obtuvo un peso final de principio activo de 0.75 g siendo menor que el obtenido con

Etanol el cual fue de 1.3 g sin embargo debido a las características del solvente, el etanol es menos tóxico que el acetato por esa razón se tomó la decisión de utilizar como Solvente el Etanol, ya que del extracto obtenido se formulara un gel de uso tópico.

Una vez determinado el solvente a utilizar se procedió de la misma manera a pesar 10 g de muestra en 100 mL de Solvente Etanol y al cabo de 3 horas se retiró y se llevó a rotavapor hasta un volumen de 10 mL obteniendo un extracto al 10% la cual se vertió en un envase de vidrio de tapa hermética. (Fig. N°3).



**Figura N°3:**  
**Rotavapor (hojas de olivo)**

### **4.3 DETERMINACION DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCION**

#### **4.3.1 MÉTODO**

Evaporación a sequedad

#### **4.3.2 FUNDAMENTO**

El porcentaje de rendimiento de extracción (% RE) se fundamenta en la obtención del extracto concentrado a partir de la separación del solvente del principio activo aplicándose a una temperatura adecuada y sometándose al extracto hasta baño María hasta evaporación total del

solvente quedando suspendido en el fondo el principio activo que se desea obtener.

### 4.3.3 PROCEDIMIENTO

- Extracto Etanólico: una vez terminada la extracción en Soxhlet se colocó el extracto en un balón para su evaporación en un equipo de rotavapor, seguidamente se procedió a su evaporación en baño María en un vaso de precipitado previamente pesado.

Se dejó secar y enfriar los vasos de precipitados con los extractos blandos, para pesarlos y registrar sus masas hasta que presenten un peso constante.

Posteriormente se calculó el porcentaje de rendimiento

- Extracto de Acetato de etilo: una vez terminada la extracción en Soxhlet se colocó el extracto en un balón para su evaporación en un equipo de rotavapor, seguidamente se procedió a su evaporación en baño María en un vaso de precipitado previamente pesado.

Se dejó secar y enfriar los vasos de precipitados con los extractos blandos, para pesarlos y registrar sus masas hasta que presenten un peso constante.

Posteriormente se calculó el porcentaje de rendimiento.

$$\%RE = \frac{\text{Peso extracto seco} \times 100}{\text{Peso planta seca}}$$

## 4.4 FORMULACIÓN DEL GEL

### 4.4.1 RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo en el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda a la elaboración de geles.

### 4.4.2 DESCRIPCIONES

Se realizó la revisión bibliográfica correspondiente para la obtención de la formulación patrón a utilizar.

#### 4.4.2.1 *Fórmula patrón*

En general se ajusta a:

Acritamer	1.00 g
Extracto de <i>Olea europaea Linneo</i>	10.00 g
Polisorbato 20	2.50 g
Metilparabeno	0.08 g
Propilparabeno	0.02 g
Agua destilada csp	100.00 g
Trietanolamina csp	pH = 7

#### 4.4.2.2 *Entorno*

- Humedad relativa:  $\leq 60\%$
- Temperatura:  $25 \pm 5^\circ\text{C}$

Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones<sup>14</sup>.

#### 4.4.2.3 Método patrón

Se pesó todos los componentes. Se dispersó el gelificante en parte del diluyente por toda la superficie, evitando la formación de grumos, se dejó reposar el tiempo suficiente hasta la total imbibición del diluyente. Se agitó evitando la incorporación de aire, hasta obtener un gel uniforme para proceder luego con la incorporación del principio activo (Fig. N° 4)

Siempre que sea posible se incorporará disuelto en el diluyente antes de elaborar el gel. Si no es así, una vez formada el gel, incorporar el resto de diluyente con los principios activos solubles. Si son insolubles en el diluyente, disolverlos o dispersarlos en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada. En caso de que sea necesario para la gelificación, agregar la sustancia reguladora del pH si procede, ajustando al pH deseado y controlándolo según procedimiento de medición de pH.



**Figura N°4:**  
**Incorporación del extracto fluido de Olivo a la base del gel**

### 4.5. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

#### 4.5.1. Método

Método de edema plantar inducido por carragenina fue creado por Winter *et al*, modificado por Sugishita).

#### 4.5.2. Fundamento

Consiste en provocar un edema en la región subplantar de la pata del animal de experimentación, por inyección de una sustancia irritante como la carragenina. El proceso inflamatorio así provocado, está constituido por dos fases. La primera fase o fase inicial, que ocurre inmediatamente después de la administración hasta la primera hora, está relacionada a mediadores de la inflamación, como la serotonina e histamina. A la hora y media intervienen las quininas. La segunda fase o fase tardía, ocurre aproximadamente a la tercera hora luego de la administración de carragenina, y está relacionada con la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, incluso se afirma que se induce y activa COX-2. La migración de neutrófilos probablemente al lugar de la inflamación ocurra alrededor de las dos horas.

#### 4.5.3. Procedimiento

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó la distribución de 6 grupos, en cada grupo 5 ratas de experimentación elegidas al azar con un total de 30 animales para la evaluación.

**GRUPO 1: GEL BASE**

**GRUPO 2: GEL EXTRACTO 1 %**

**GRUPO 3: GEL EXTRACTO 2 %**

**GRUPO 4: EXTRACTO 10%**

**GRUPO 5: EXTRACTO 20%**

**GRUPO 6: DICLOFENACO 1%**

Una vez identificadas según su grupo asignado, se utilizó el pletismómetro digital se calibró y se midió el volumen de la pata posterior del animal, tanto la derecha como la izquierda, se tomó el valor promedio como dato basal con cada grupo de trabajo.

Se administró 0.1 mL de una solución de carragenina al 1% en suero fisiológico en ambas patas posteriores de cada rata (Fig. N° 5).

Se realizó la lectura de ambas patas al cabo de 3, 5, 7, 9 y 15 horas, inmediatamente después de cada lectura se aplicó un nuevo tratamiento.

Se halló el porcentaje de inflamación de cada grupo, mediante la siguiente fórmula, considerando el volumen basal medido.



**Figura N°5**  
**Administración de la solución de carragenina al 1%**

## 5. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

### 5.1. Estadística descriptiva

#### 5.1.1. Medidas de tendencia central

Las medidas de tendencia central con llevan información respecto al valor promedio de un conjunto de valores.

##### 5.1.1.1. Media aritmética

Es la medida de tendencia central más conocida. La media se obtiene sumando todos los valores en una población o muestra y dividiendo entre los valores sumados

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

### 5.1.1.2. Medidas de dispersión

La dispersión de un conjunto de observaciones se refiere a la variedad que muestran éstas. Una medida de dispersión conlleva información respecto de la cantidad total de variabilidad presente en el conjunto de datos. Si todos los valores son iguales no hay dispersión, pero si no todos son iguales, entonces existe dispersión en los datos. La magnitud de la dispersión es pequeña cuando los valores, aunque diferentes, son cercanos entre sí.

#### 5.1.1.2.1 La varianza

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos. En consecuencia, se puede pensar intuitivamente que es posible medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Esta medición se efectúa mediante lo que se conoce como *varianza*. Para calcular la varianza de una muestra de valores, se resta la media de cada uno de los valores individuales, las diferencias se elevan al cuadrado y después se suman entre sí. Esta suma de desviaciones elevadas al cuadrado de los valores con respecto a la media se divide entre el tamaño de la muestra, menos 1, para obtener la varianza de la muestra. Si se asigna la letra  $s^2$  para simbolizar la varianza de la muestra, el procedimiento descrito se expresa como sigue:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

#### 5.1.1.2.2. Desviación estándar

La varianza representa unidades al cuadrado, por lo que no es una medida adecuada de dispersión si se pretende expresar este concepto en términos de las unidades originales. Para obtener la medida de dispersión en unidades originales, simplemente se obtiene la raíz cuadrada de la varianza. (32)

$$s = \sqrt{s^2}$$

## 5.2. Estadística inferencial

### 5.2.1 ANOVA

El análisis de varianza es utilizado en el presente estudio para estimar y probar hipótesis respecto a las medias de las poblaciones, sin embargo, es necesario precisar que las conclusiones respecto a las medias dependen de la magnitud de las varianzas observadas.

### 5.2.2 Prueba HSD de Tukey

Es un procedimiento de comparación múltiple, desarrollado por Tukey se utiliza con frecuencia para probar hipótesis nula de que todos los pares de medias posibles de tratamientos son iguales si el tamaño de todas las muestras es igual. Si se utiliza esta prueba es necesario seleccionar un nivel de significación total de  $\alpha$ . Si la probabilidad es  $\alpha$ , entonces, una o más de las hipótesis nulas es falsa.

La prueba de Tukey, que generalmente se conoce como prueba de HSD (*diferencia verdaderamente significativa*), utiliza un solo valor que se compara contra el que se comparan todas las diferencias. Este valor es llamado HSD.



## 1. OBTENCION DE LOS EXTRACTOS

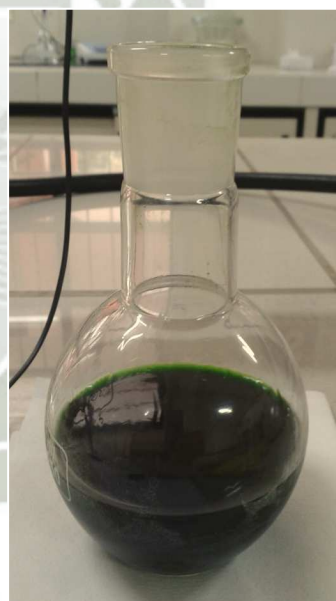
Después de haber obtenido los líquidos extractivos con acetato de etilo y etanol por el método continuo de Soxhlet, se procedió a evaporarlos solventes, hasta obtener como resultado final un extracto blando de hojas de *Olea Europaea Linneo* (Olivo).

El extracto obtenido presentó las siguientes características.

- Color: verde intenso.
- Aspecto: límpido
- Olor: característico a la droga.
- Aspecto: límpido y uniforme
- Consistencia : blanda –resinoide



**Figura N° 6:**  
Extracción mediante Soxhlet



**Figura N° 7:**  
Solución extractiva etanolica

## 2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS

Para determinar el porcentaje de rendimiento de los extractos, se tomó 10 g de hojas de *Olea Europaea Linneo* (Olivo) desecado y molido para luego extraer los principios activos por el método continuo de extracción (método Soxhlet) con disolventes de diferente polaridad (acetato de etilo y etanol), posteriormente se evaporo el solvente hasta peso constante y se determinó el porcentaje de rendimiento del extracto.

El extracto realizado con etanol presenta 13% de compuestos solubilizados, presentando el mayor porcentaje de rendimiento.

El extracto realizado con acetato de etilo presento de rendimiento de 7.5% de rendimiento. (Cuadro N° 3)

**Cuadro N° 3**

### **PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS BLANDOS DE *Olea Europaea Linneo* (Olivo)**

		N° de extracción		
Extracto		1	2	promedio
Etanolico	Peso hojas secas (g)	10.0	10.00	10.00
		0		
	Peso extracto blando (g)	1.3	1.2	1.3
	%RE	13	12	13
Acetato de etilo	Peso hojas secas (g)	10.0	10.00	10.00
		0		
	Peso extracto blando(g)	0.74	0.75	0.75
	%RE	7.4	7.5	7.5

*Elaboración propia*

El extracto blando realizado con etanol, es decir con el solvente polar, tuvo un porcentaje de rendimiento mayor.

### 3. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO DE OLIVO

Luego de realizar diversas pruebas para la formulación correcta del gel se obtuvo la fórmula farmacéutica como se muestra a continuación.

#### 3.1. FÓRMULA

Acritamer	1.00 g
Extracto de <i>Olea europaea</i> Linneo	10.00 g
Polisorbato 20	2.50 g
Metilparabeno	0.08 g
Propilparabeno	0.02 g
Agua destilada csp	100.00 g
Trietanolaminacsp	pH = 7

#### 3.2. ELABORACIÓN DEL GEL

Se pesaron los componentes de la fórmula, se calentó agua destilada hasta 60° C, disolviendo los parabenos y el polisorbato, en este caso se usó un agitador magnético para que cada vez que se adicione un componente este siendo homogenizado por el agitador magnético colocado dentro del recipiente.

Se dispersó mediante agitación el acritamer y una vez disuelto este se gelificó con la adición de trietanolamina gota a gota teniendo mucho cuidado que el pH no sobrepase el valor 7.

En un recipiente aparte se disolvió el polisorbato en el extracto y se añadió al gel obtenido anteriormente, se agitó con una bagueta hasta la homogenización total del gel procediendo luego a su envasado tanto del 1% como del 2%. (Fig.N°8)



**Figura N° 8:**  
**Gel obtenido**

#### **4. EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO**

Luego de la aclimatación de las ratas se procedió a la distribución de las mismas en forma aleatoria, procediendo al marcado para su identificación; se procedió a la medición del volumen de las patas de los animales (medición basal).

Seguidamente se administró 1 mL de la solución irritante constituida por carragenina al 1%, inmediatamente se administró los respectivos tratamientos. Al cabo de 1, 3, 5, 7, 9 y 15 horas se midió el volumen de la inflamación en el pletismómetro digital (Fig.N°9), después de cada medida se aplicó el respectivo tratamiento.

Se consideró como tiempo 0 a la lectura realizada al inicio del tratamiento. Estas lecturas sirvieron de base para hallar los porcentajes de inflamación de cada grupo de experimentación.

Cuadro N° 4

DETERMINACIÓN DE INFLAMACIÓN DE GRUPOS TRATADOS  
TRANSCURRIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS

	Nº RATA	T0: (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2: 5 hrs (mL)	T3: 7 hrs (mL)	T4: 9hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
<b>GEL BASE</b>	1	0.80	1.56	1.55	1.55	1.53	1.49
	2	0.82	1.65	1.64	1.63	1.61	1.58
	3	0.85	1.62	1.62	1.60	1.59	1.58
	4	0.89	1.60	1.60	1.58	1.57	1.55
	5	0.90	1.66	1.66	1.64	1.63	1.58
<b>GEL EXTRACTO 1%</b>	1	0.86	1.62	1.47	1.38	1.21	1.77
	2	0.81	1.64	1.55	1.35	1.22	1.00
	3	0.83	1.62	1.49	1.33	1.28	1.09
	4	0.80	1.59	1.52	1.46	1.29	1.11
	5	0.82	1.62	1.59	1.42	1.21	1.12
<b>GEL EXTRACTO 2%</b>	1	0.84	1.67	1.48	1.37	1.23	0.99
	2	0.80	1.69	1.52	1.40	1.27	1.00
	3	0.87	1.66	1.49	1.38	1.24	0.97
	4	0.86	1.62	1.43	1.30	1.16	0.95
	5	0.83	1.60	1.46	1.35	1.21	0.98
<b>EXTRACTO 10%</b>	1	0.86	1.66	1.58	1.51	1.44	1.34
	2	0.81	1.64	1.56	1.50	1.43	1.31
	3	0.83	1.68	1.59	1.54	1.48	1.37
	4	0.80	1.59	1.52	1.46	1.39	1.29
	5	0.82	1.62	1.56	1.50	1.43	1.32
<b>EXTRACTO 20%</b>	1	0.84	1.65	1.60	1.53	1.41	1.35
	2	0.87	1.67	1.60	1.55	1.42	1.30
	3	0.83	1.63	1.58	1.47	1.40	1.34
	4	0.86	1.66	1.57	1.48	1.39	1.31
	5	0.85	1.68	1.60	1.56	1.50	1.40
<b>DICLOFENACO 1%</b>	1	0.80	1.66	1.47	1.35	1.20	0.85
	2	0.82	1.63	1.46	1.29	1.23	0.93
	3	0.87	1.62	1.50	1.33	1.15	0.90
	4	0.85	1.60	1.42	1.27	1.18	0.87
	5	0.89	1.61	1.51	1.32	1.19	0.91

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1 DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE INFLAMACION

En el cuadro N° 4 se observa el resultado de los porcentajes de inflamación de los diferentes grupos experimentales calculados a partir de las unidades en mililitros, dados por el Pletismometro digital. El porcentaje de inflamación fue calculado con la fórmula del Anexo 2.

El porcentaje de inflamación fue calculado desde la tercera hora de administrar el agente flogogeno (solución de carragenina al 1%), hasta 15 horas después. Los tratamientos fueron administrados tres horas después de administrar el agente flogogeno.

Existe un mayor efecto antiinflamatorio en los grupos de Diclofenaco al 1% y el grupo del gel con extracto al 2%, a partir de la quinta hora dado que a la tercera hora se administró los tratamientos y tras su absorción los principales metabolitos antiinflamatorios ejercen su efecto.

En base a los resultados obtenidos se procedió a realizar las pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey, para verificar que estas aseveraciones sean estadísticamente significativas.



**Figura N° 9:**  
**Medición de pata pletismómetro digital**

Cuadro N° 5

**PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN PRODUCIDOS POR LOS GRUPOS  
TRATADOS TRANSCURRIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS**

<b>EVALUACIÓN DE PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN</b>						
	<b>N° RATA</b>	<b>T1: 3 hrs (%)</b>	<b>T2: 5 hrs (%)</b>	<b>T3: 7 hrs (%)</b>	<b>T4: 9hrs (%)</b>	<b>T5: 15 hrs (%)</b>
<b>GEL BASE</b>	1	48.72	48.39	48.39	47.71	46.31
	2	50.30	50.00	49.69	49.07	48.10
	3	47.53	47.53	46.88	46.54	46.20
	4	44.38	44.38	43.67	43.31	42.58
	5	45.78	45.78	45.12	44.79	43.04
<b>GEL EXTRACTO 10%</b>	1	46.91	41.50	37.68	28.93	51.41
	2	50.61	47.74	40.00	33.61	19.00
	3	48.77	44.30	37.59	35.16	23.85
	4	49.69	47.37	45.21	37.98	27.93
	5	49.38	48.43	42.25	32.23	26.79
<b>GEL EXTRACTO 20%</b>	1	49.70	43.24	38.69	31.71	15.15
	2	52.66	47.37	42.86	37.01	20.00
	3	47.59	41.61	36.96	29.84	10.31
	4	46.91	39.86	33.85	25.86	9.47
	5	48.13	43.15	38.52	31.40	15.31
<b>EXTRACTO 10%</b>	1	48.19	45.57	43.05	40.28	35.82
	2	50.61	48.08	46.00	43.36	38.17
	3	50.60	47.80	46.10	43.92	39.42
	4	49.69	47.37	45.21	42.45	37.98
	5	49.38	47.44	45.33	42.66	37.88
<b>EXTRACTO 20%</b>	1	49.09	47.50	45.10	40.43	37.78
	2	47.90	45.63	43.87	38.73	33.08
	3	49.08	47.47	43.54	40.71	38.06
	4	48.19	45.22	41.89	38.13	34.35
	5	49.40	46.88	45.51	43.33	39.29
<b>DICLOFENACO 1%</b>	1	51.81	45.58	40.74	33.33	5.88
	2	49.69	43.84	36.43	33.33	11.83
	3	46.30	42.00	34.59	24.35	3.33
	4	46.88	40.14	33.07	27.97	2.30
	5	44.72	41.06	32.58	25.21	2.20

*Fuente: Elaboración propia*

## 4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL DE ANOVA Y TUKEY

### 4.2.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO AL INICIO DEL EXPERIMENTO

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA a los datos correspondientes al volumen basal en las ratas en experimentación a nivel de edema suplantar (Cuadro N<sup>o</sup> 6), observamos que el cociente F es igual a 0,9. También observamos que el P – valor de la prueba de F es superior a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95.0 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N<sup>o</sup> 7), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó que todos los grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas ya que todos los tratamientos comparten una misma columna X's. El Test de Tukey corrobora lo determinado en el análisis varianza de ANOVA.

**Cuadro N<sup>o</sup> 6**

#### ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACIÓN OBTENIDA AL INICIO DEL EXPERIMENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00394667	5	0,00078933	0,9	0,4969
Intra grupos	0,02104	24	0,00087667		
Total (Corr.)	0,0249867	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 7**

**TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO AL INICIO DEL EXPERIMENTO**

Tratamiento	Casos	Media	Grupos homogéneos
Gel extracto 1%	5	0,824	X
Extracto 10%	5	0,824	X
Gel extracto 2%	5	0,84	X
Diclofenaco 1%	5	0,846	X
Extracto 20%	5	0,85	X
Gel base	5	0,852	X

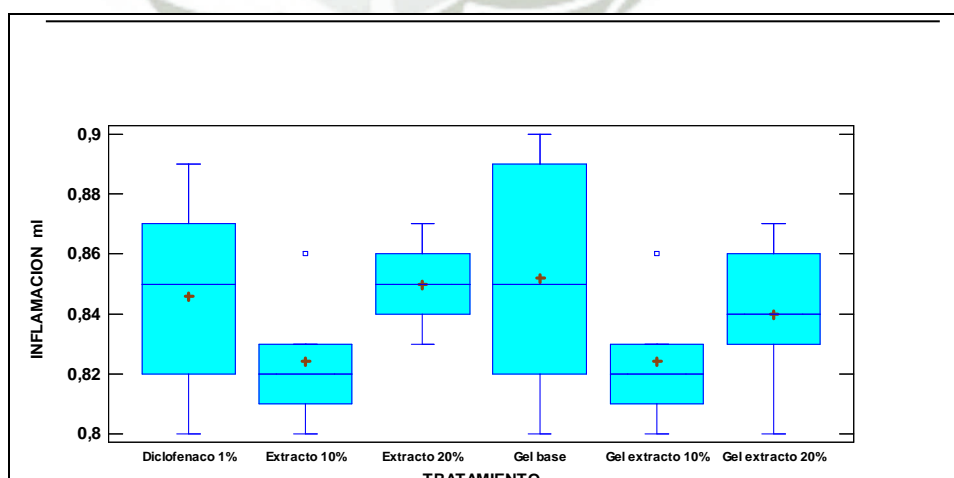
*Fuente: Elaboración propia*

En la figura N<sup>a</sup> 10 muestra la media de inflamación para cada tratamiento al inicio del experimento. Observamos que todos los grupos experimentales se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Es correcto que no se observe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ya que todos los grupos se sometieron a las mismas condiciones de experimentación.

**Figura N° 10:**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO AL INICIO DEL EXPERIMENTO**



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO TRES HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA de la inflamación producida 3 horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro N<sup>o</sup> 8), observamos que el cociente F es igual a 0,213.

También observamos que el P – valor de la prueba de F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95.0 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N<sup>o</sup> 9), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó que todos los grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas ya que todos los tratamientos comparten una misma columna X's. El Test de Tukey corrobora lo determinado en el análisis varianza de ANOVA

**Cuadro N<sup>o</sup> 8**

#### ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACIÓN OBTENIDA TRES HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,007	5	0,0014	1,55	0,213
Intra grupos	0,02172	24	0,000905		
Total (Corr.)	0,02872	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 9****TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO  
TRES HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Gel extracto 1%	5	1,618	X
Gel base	5	1,618	X
Diclofenaco 1%	5	1,624	X
Extracto 10%	5	1,638	X
Gel extracto 2%	5	1,648	X
Extracto 20%	5	1,658	X

*Fuente: Elaboración propia*

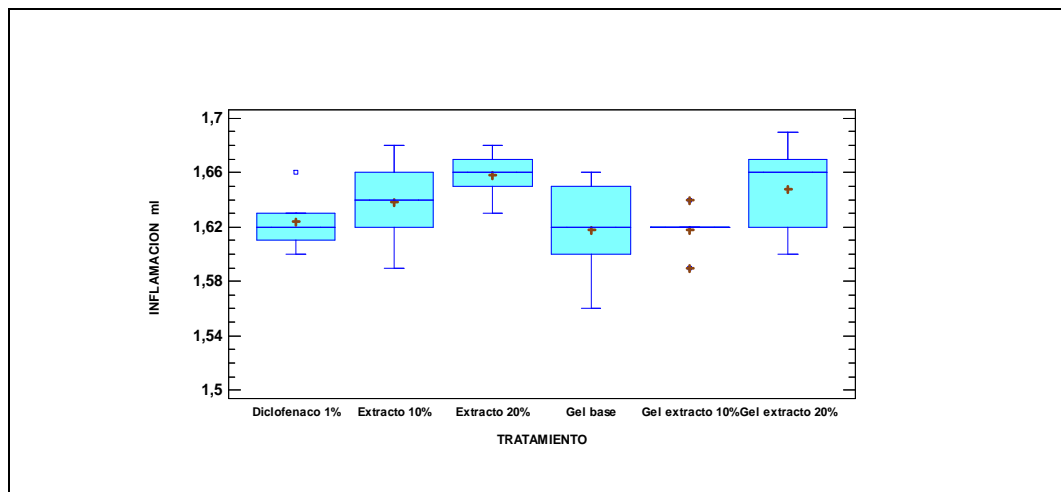
En la figura N<sup>a</sup> 11 muestra la media de inflamación para cada tratamiento a las tres horas después de haber administrado el agente flogogeno (solución de carragenina al 1%). También muestra un intervalo alrededor de la media cualquier par de intervalos que no traslapan verticalmente corresponde a pares de medias que tiene diferencia estadísticamente significativa al 95.0 % de confianza.

Observamos que todos los grupos experimentales se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Tres horas después de administrar el agente flogogeno, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos dado que hasta ese momento todos los grupos de tratamiento se sometieron a las mismas condiciones de experimentación.

**Figura N° 11:**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO TRES HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**



*Fuente: Elaboración propia*

**4.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO CINCO HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA de la inflamación producida cinco horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro N°10), observamos que el cociente F es igual a 0.

También observamos que el P – valor de la prueba de F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N°11), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó que todos los grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas ya que todos los tratamientos comparten una misma columna X's.

**Cuadro N° 10**

**ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACION OBTENIDA  
CINCO HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0871767	5	0.0174353	14.18	0
Intra grupos	0.02952	24	0.00123		
Total (Corr.)	0.116697	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 11**

**TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO  
CINCO HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD			
tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Diclofenaco 1%	5	1.472	X
Gel extracto 2%	5	1.476	X
Gel extracto 1%	5	1.524	XX
Extracto 10%	5	1.562	XX
Extracto 20%	5	1.59	XX
Gel base	5	1.614	X

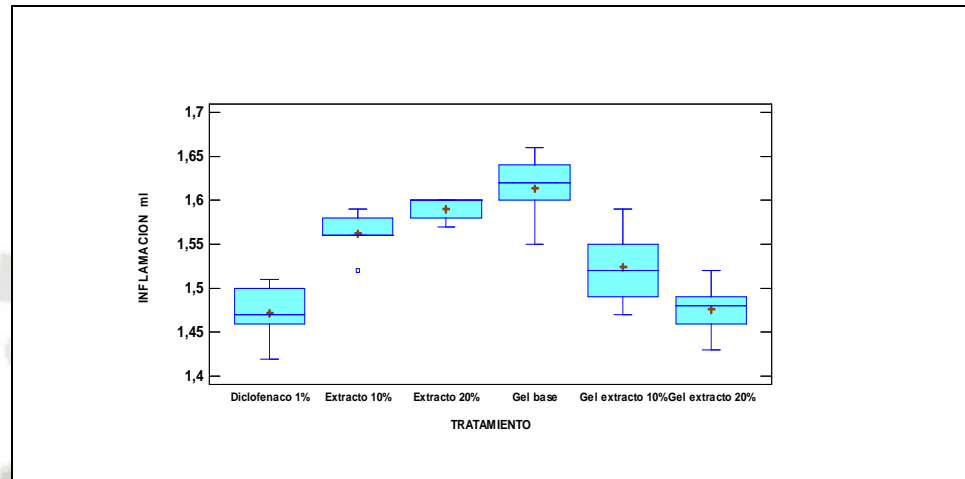
*Fuente: Elaboración propia*

En la figura N° 12 muestra la media de inflamación para cada tratamiento a las cinco horas después de haber administrada la solución de carragenina al 1%. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no traslapen verticalmente corresponde a pares de medias que tiene diferencia estadísticamente significativa al 95.0 % de confianza.

Observamos que todos los grupos de Diclofenaco al 1% y el gel de extracto al 2% se traslapan verticalmente; también el grupo del extracto del 10% y el del extracto al 20% se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa

**Figura N° 12:**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO CINCO HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO SIETE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA de la inflamación producida siete horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro N°12), observamos que el cociente F es igual a 0.

También observamos que el P – valor de la prueba de F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N°13), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó que todos los grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas ya que todos los tratamientos comparten una misma columna X's.

**Cuadro N° 12**

**ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACION OBTENIDA  
SIETE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.303747	5	0.0607493	40.14	0
Intra grupos	0.03632	24	0.00151333		
Total (Corr.)	0.340067	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 13**

**TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO  
SIETE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

<b>Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD</b>			
tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Diclofenaco 1%	5	1.312	X
Gel extracto 2%	5	1.36	X
Gel extracto 1%	5	1.388	X
Extracto 10%	5	1.502	X
Extracto 20%	5	1.518	X
Gel base	5	1.6	X

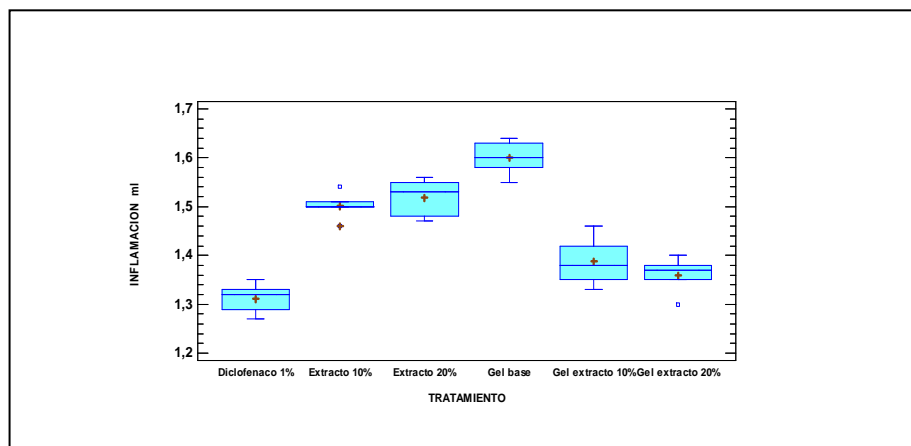
*Fuente: Elaboración propia*

En la figura N° 13 muestra la media de inflamación para cada tratamiento a las siete horas después de haber administrado el agente flogogeno. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no traslapen verticalmente corresponde a pares de medias que tiene diferencia estadísticamente significativa al 95.0 % de confianza.

Observamos que todos los grupos de Diclofenaco al 1%, el gel extracto 1% y el gel de extracto al 2% se traslapan verticalmente; también el grupo del extracto del 10% y el del extracto al 20% se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa

**Figura N° 13:**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0% DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO SIETE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO NUEVE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA de la inflamación producida nueve horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro N° 14), observamos que el cociente F es igual a 0.

También observamos que el P – valor de la prueba de F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N° 15), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó que todos los grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas ya que todos los tratamientos comparten una misma columna X's. Observamos que todos los grupos de Diclofenaco al 1%, el gel extracto 1% y el gel de extracto al 2% se traslapan verticalmente; también el grupo del extracto del 10% y el del extracto al 20% se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

**Cuadro N° 14**

**ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACION OBTENIDA  
NUEVE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Tabla ANOVA para Inflamación ml 9 horas por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.609377	5	0.121875	85.73	0
Intra grupos	0.03412	24	0.00142167		
Total (Corr.)	0.643497	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 15**

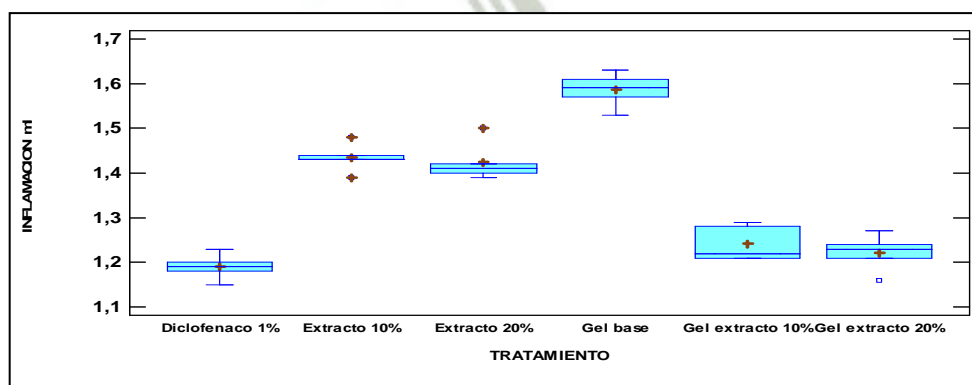
**TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO  
NUEVE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

Pruebas de Múltiple Rangos para Inflamación ml 9 horas por tratamiento			
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD			
Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Diclofenaco 1%	5	1.19	X
Gel extracto 2%	5	1.222	X
Gel extracto 1%	5	1.242	X
Extracto 20%	5	1.424	X
Extracto 10%	5	1.434	X
Gel base	5	1.586	X

*Fuente: Elaboración propia*

**Figura N° 14:**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0%  
DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO NUEVE HORAS DESPUES DEL  
AGENTE FLOGOGENO**



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO QUINCE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Al aplicar el análisis de varianza - ANOVA de la inflamacion producida a las quince horas después de administrar la solución de carragenina (Cuadro N°16), observamos que el cociente F es igual a 17,77. También observamos que el P – valor de la prueba de F es mayor a 0.05, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los 6 tratamientos a un nivel de confianza del 95.0 %.

Para determinarlas medias que son significativamente diferentes unas con otras utilizamos el Test de Tukey (Cuadro N°17), en el cual se realiza una comparación múltiple; se identificó dos grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas indicando que no existe diferencia estadísticamente significativas entre aquellos que compartan una misma columna X's. No existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo del Diclofenaco al 1% y el gel con extracto de las hojas de olivo al 2%; tampoco existe diferencia entre el grupo del extracto de las hojas de olivo al 10% y al 20%

**Cuadro N° 16**

#### ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA INFLAMACION OBTENIDA QUINCE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,52334	5	0,304667	17,77	0
Intra grupos	0,41148	24	0,017145		
Total (Corr.)	1,93482	29			

*Fuente: Elaboración propia*

**Cuadro N° 17**

**TEST DE TUKEY AL 95.0 % DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO  
QUINCE HORAS DESPUES DEL AGENTE FLOGOGENO**

tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Diclofenaco 1%	5	0,892	X
Gel extracto 2%	5	0,978	XX
Gel extracto 1%	5	1,218	XX
Extracto 10%	5	1,326	XX
Extracto 20%	5	1,34	XX
Gel base	5	1,556	X

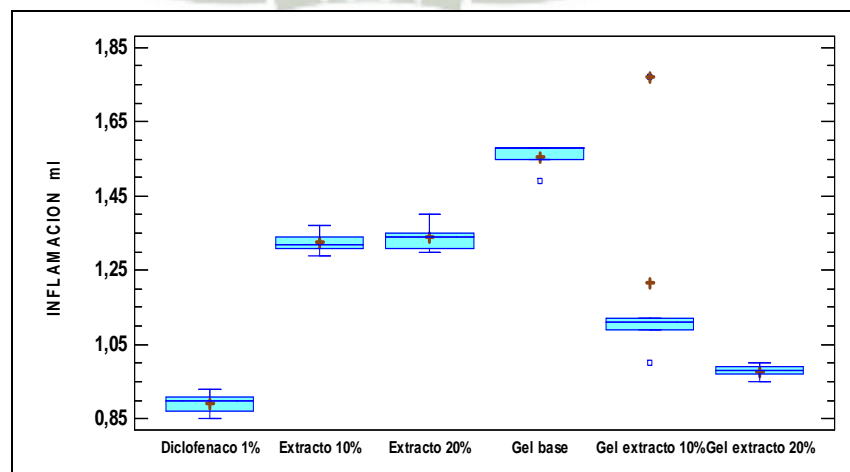
*Fuente: Elaboración propia*

En la figura N<sup>a</sup>15 muestra la media de inflamación para cada tratamiento a las tres horas después de haber administrada la solución de carragenina al 1%. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no traslapan verticalmente corresponde a pares de medias que tiene diferencia estadísticamente significativa al 95.0 % de confianza.

Observamos que todos los grupos de Diclofenaco al 1% y el gel de extracto al 2% se traslapan verticalmente; también el grupo del extracto del 10% y el del extracto al 20% se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

**Figura N°:15**

**MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS POR INTERVALOS HSD DE TUKEY AL 95.0%  
DE CONFIANZA POR TIPO DE TRATAMIENTO QUINCE HORAS DESPUES DEL  
AGENTE FLOGOGENO**



*Fuente: Elaboración propia*

## CONCLUSIONES

### PRIMERA

Se obtuvo el extracto fluido etanólico de *Olea europaea Linneo* (olivo) a las concentraciones de 10% y 20%.

### SEGUNDA

Se formuló un hidrogel conteniendo extracto fluido de *Olea europaea Linneo* (olivo) en una concentración de 1% y 2%.

### TERCERA

Se midió la actividad inflamatoria inducida por carragenina, hallándose que el grupo que se trató con el gel del diclofenaco mostro menor inflamación, seguido por el grupo tratado con gel con extracto de *Olea europaea Linneo* (olivo) al 2%; seguido del grupo con extracto de *Olea europaea Linneo* (olivo) al 1%.

### CUARTA

El gel con extracto de *Olea europaea Linneo* (olivo) 2% mostro una eficacia antiinflamatoria estadísticamente similar al gel de diclofenaco al 1%.

### QUINTA

Se demostró el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Olea europaea Linneo* (olivo) en un modelo experimental preclínico.

## SUGERENCIAS

### PRIMERA

Determinar la toxicidad aguda y crónica; local y sistémica del extracto fluido de Olivo en animales de experimentación, a fin de establecer la seguridad de dicho extracto.

### SEGUNDA

Realizar estudios pre clínicos en otras especies de animales y clínicos con el objetivo de confirmar la eficacia del gel con extracto fluido de Olivo al 20% como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria tópica.

### TERCERA

Confirmar las otras propiedades medicinales que atribuye la población al olivo, mediante investigaciones que utilicen el método científico.

### CUARTA

Realizar estudios clínicos, con el objetivo de confirmar la eficacia del gel con extracto de *Olea europaea* Linneo (olivo) 20% como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria.

### QUINTA

Continuar la investigación de otros efectos terapéuticos del *Olea europaea* Linneo (olivo) ya que la medicina natural de atribuye bastantes efectos terapéuticos

## BIBLIOGRAFÍA

1. ALBI T., GUINDA A., LANZÓN A. (2001). *“Procedimiento de Obtención y Determinación de Ácidos Terpénicos de la Hoja del Olivo (Olea Europaea)”*. Grasas y Aceites. Vol.52. Pp. 275-278.
2. ALDAVE PAJARES Augusto; MOSTACERO LEÓN José: *Botánica Farmacéutica*. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
3. ALONSO, Jorge: *Tratado de Fitomedicina Bases Clínicas y Farmacológicas*. 1ª Edición. 2004. Editorial ISIS. Argentina.
4. ALVARADO ALVA J., *Apuntes de Farmacología*. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
5. BIANCHI G., VLAHOV G., ANGLANI C., MURELLI C. (1993). *“Epicuticular wax of olive leaves”*. Phytochemistry. Vol. 32. Pp. 49-52.
6. BOURQUELOT E., VINTILESCO J. (1908). *“Sur l’oleuropein, nouveau principe de nature glucosidique retiré de l’olivier (Olea europaea L.)”*. Compt. Rend. Hebd. Acad. Sci. Paris. Vol. 147. Pp. 533-535.
7. BOWMAN W.C. y RAND M.J.: *FARMACOLOGÍA Bases Bioquímicas Y Patológicas Aplicaciones Clínicas*, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
8. BRACK EGG, Antonio. *Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú*. 1ª Edición. 1999.
9. BRAVO DÍAZ, Luis. *Farmacognosia*. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
10. BRUNETON J. *Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales*. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.

11. C. ROZMAN: *Compendio De Medicina Interna*, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
12. CAPRETTI G., BONACONZA E. (1949). “*Effects of infusions or decoctions of Olive leaves (Olea europaea) on some physical constants of blood and Components of metabolism*”. *Giorn.Clin.Med.* Vol. 30. Pp. 630-642.
13. CARRASCO DÍAZ S.; *Metodología De La Investigación Científica*, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
14. DE LA PUERTA R. RUIZ GUTIERREZ v. hol J.R.S. *Inhibition Ginolive Oil. Biochempharmacol* 1999
15. DE LAURENTIS N., CRESCENZO G., LAI O., MILILLO M. (1997). “*Investigation on the extraction and concentration of oleuropeina and flavonoids in Olea europaea L . based products*”. *Pharm Pharmacol Lett.* Vol. 7. Pp. 27-30.
16. DORLAND. *Diccionario Médico*, 26ª Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana.
17. ENCICLOPEDIA MUNDIAL DEL OLIVO. Consejo Oleícola Internacional. (1996). Plaza & Janés editores, S.A. España. Pp. 61-71
18. FARRERAS ROZMAN. *Medicina Interna*, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
19. FLAHAULT R. (1986). “*L Olivier*”, *Ann. Ecole Nat. Agric. t II.* Montpellier.
20. FLEURIET A., MACHEIX J., ANDARY C., VILLEMUR P. (1984). “*Mise en évidence et dosage par chromatographie liquide à haute performance du verbascoside dans le fruit de six cultivars d’Olea europaea L*”. *C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. III.* Vol. 7. Pp. 253-256.
21. FLORA L., MADORE M. (1993). “*Stachyose and mannitol transport in olive (Olea europaea L.)*”. *Planta.* Vol. 189. Pp. 484-490.

22. FLÓREZ Jesús: *Farmacología Humana*, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
23. GARCÍA GUTIÉRREZ, ZEA CHÁVEZ: “Efecto antiinflamatorio tópico de la asociación de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) y *Calendulaofficinalis* (caléndula) en el edema inducido experimentalmente en ratas”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2008
24. GARIBOLDI P., JOMMI G., VEROTTA L. (1986). “*Secoiridoids from Olea europaea*”. *Phytochemistry*. N° 4. Vol.25. Pp.865–869.
25. GENNARO Alfonso: *Remington Farmacia*. 19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. 1999
26. HANBURY D. (1854). “*On the febrifuge properties of the olive (Olea uropaea, L)*”. *Pharmaceutical J. Provincial Transactions*. Pp. 353-354.
27. HARMAN J., LIMBIRT L. Y GILMAN A.: *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
28. HARVEY R. & CHAMPE P. (Editors): *Pharmacology*. 4ª Edición, 2009. Lippincott Edition.
29. HEIMLER D., CIMATO A., SANI G., PIERONI A., GALARDI C., ROMANI A. (2002). “*Flavonoids from olive leaves (Olea europaea L.) as affected by light*”. *J. Commodity Sci*. N° 1. Vol. 41. Pp.31-39.
30. HERNÁNDEZ SAMPIERI R., FERNÁNDEZ COLLADO C.: *Metodología de la Investigación*, 5ª Edición, 2010. McGRAW HILL Interamericana Editores.
31. IBARRA BOURONCLE, Isaac “*Compendio de la Cirugía General ESCUELA DE POST GRADO UCSM AREQUIPA* 1993
32. KATZUNG BERTRAM G.: *Farmacología Básica y Clínica*. 11ª Edición, 2009. Editorial McGraw Hill Interamericana.

33. KUKLLINSKI Claudia. *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
34. KUWAJIMA H., UEMURA T., TAKAISHI K., INOUE K., INTUYE H. (1988). “*A secoiridoid glucoside from Olea europaea*”. *Phytochemistry*. N° 6. Vol.27. Pp. 1757-1759
35. LE TUTOUR B., GUEDON D. (1992). “*Antioxidative activities of Olea europaea leaves and related phenolic compounds*”. *Phytochemistry*. Vol. 31. Pp.1173-1178.
36. LOCK DE UGAZ O. *Colorantes Naturales*. 1ª Edición. 1994. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
37. LOCK DE UGAZ O. *Investigación Fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales*. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
38. LÓPEZ LUENGO M. (2006). “*El olivo. Propiedades terapéuticas*”. *Ámbito Farmacéutico. Fitoterapia (OFFARM)*. N° 11.Vol. 25.Pp. 56-59.
39. LORENZO P., MORENO A., Leza J.C. y MORO M.A.: VELÁZQUEZ *Farmacología básica y clínica*, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
40. MARACANO, DEANNA Y HASEGAWA MASAHISA: *Fitoquímica Orgánica*, 2ª Edición. 2002. Editorial Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Venezuela.
41. MENDOZA PATIÑON. “*Farmacología Médica in México*: Medica Panamericana 2008
42. MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO DE ESPAÑA. *Formulario Nacional*, 1ª Edición. 2003. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
43. MORETTINI A. (1972). “*Olivicultura*”. Ramo Editorial Degli Agricoltori. Roma.

44. MOSTACERO J.; MEJÍA F.; GAMARRA O. *Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú*. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
45. MUSSINI P., ORSINI F., PELIZZONI F. (1975). “*Triterpenes in leaves of Olea europaea*”. *Phytochemistry*. Vol 14. Pp. 1135-1139
46. O`CONNORA. *Lo esencial en patología: el servicier españa* 2011
47. PANIZZI L., SCARPATI M., ORIENTE G. (1960). “*The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action*”. *Gazzetta Chimica Italiana*. Vol 90. Pp 1449–1485
48. PASQUALE A., MONFORTE M., CALABRO M. (1991). “*HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of Olea Europaea L*”. *Il Farmaco*. Nº 6. Vol. 46. Pp.803-815.
49. PEREA LAYME, Carla y VALERO CONDOY, Onelia: “**Estudio del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las flores de *Calendula officinalis* L (caléndula) y su relación con el contenido de flavonoides**”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2002.
50. RAGAZZI E., VERONESE G., GUIOTTO A. (1973). “*Demethyloleuropein, a new glucoside isolated from ripe olives*”. *Ann . Chim*. Vol. 63. Pp. 13-20.
51. RANG H. & DALE M. *Pharmacology*, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.
52. REMINGTON *The Science and Practice of Pharmacy 20 Thedition 2003*
53. RODES TEIXIDOR, GUARDIA MASSÓ: *Medicina Interna*. Editorial
54. ROMANI A., PINELLI P., MULINACCI N., VINCIERI F., GRAVANO E., TATTINI M. (2000). “*HPLC Analysis of Flavonoids and Secoiridoids in Leaves of Ligustrum vulgare L. (Oleaceae)*”. *J Agric. Food Chem*. Vol. 48. Pp. 4091-4096.
55. ROWE R. SHESKEYP YOWEN S HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 5 EDICION 2006 PHARMACEUTICAL PRESS

56. SHARAPIN N. *Fundamentos de la Tecnología de Productos Fitoterapéuticos in Santa Fe de Bogotá*. Área de ciencia y tecnología del convenio andres Bello 2000
57. SOCIEDAD CUBANA DE FARMACOLOGIA. “*Taller nacional de la inflamación*”. In;2001. La Habana.
58. SOLER-RIVAS C., ESPÍN JC., WICHERS HJ. (2000). “*Oleuropein and related compounds*”. J. Sci. Food Agric Vol. 80. Pp.1013-1023.
59. STANLEY, ROBIBINS, VINAY KUMAR *Manual de Patología Estructural Y Funcional*. 6º Edición. Editorial McGraw- Hill Interamericana de México 2003.
60. STOOP J., WILLIAMSON J., PHARR D. (1996). “*Mannitol metabolism: a method for coping with stress*”. Trends Plant Sci. Vol. 1. Pp. 139-144.
61. TOMBESSI A., CARTECHINI A. (1986). “*L’effetto dell’ombreggiamento della chioma sulla differenziazione delle gemme a fiore dell’ olivo*” Riv. Ortoflorofrutti It.Vol. 70. Pp. 277-285.
62. VÁZQUEZ-RONCERO A., Janer M. (1969). “*Ácidos triterpénicos del olivo*”. Grasas y Aceites. Vol. 20. Pp.133-137.
63. VILA JATO JOSÉ LUIS (Editor): *Tecnología Farmacéutica*. 1ª Edición 2001. Editorial SINTESIS S.A.
64. VINAY KUMAR ABULK. Abbas, Nelson Fausto *Patología Estructural Y Funcional* Robbins Y Cotran 7º Edicion Editorial Elsevier España 2005.
65. VINAY KUMAR, Charles *Patología Humana* 5º Edición Editorial McGraw- Hill Interamericana.
66. ZOHARY D. (1973). “*Geobotanical foundations of the middle east*”. Fisher, Swets and Zeitlinger. Stuttgart, Amsterdam. Pp.739.





**ANEXO 1 : CONSTANCIA DE DETERMINACION  
TAXONOMICA**

## ANEXO 2 : FORMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INFLAMACION

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{(Vt_x - Vt_0)}{Vt_0} \times 100$$

$Vt_x$  : Volumen de la pata inflamada a un tiempo x

$Vt_0$  : Volumen normal de la pata



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA**  
**HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)**



**AÑO DE LA INVERSIÓN PARA EL DESARROLLO RURAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA”**

**CONSTANCIA N° 04-2015-HUSA**

El Director del *Herbarium Areqvipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:


Que las plantas secas presentado por los Bachilleres Danny Paredes Espinoza y Sofía Polar Cárdenas Egresados de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su trabajo de Tesis: “Evaluación del Efecto antiinflamatorio del extracto y gel del olivo en animales de experimentación”. La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico seco, procedente de Ilo . para su determinación en el *Herbarium Areqvipense* (HUSA) y corresponde a la especie:

*Olea europaea* L.

Familia Oleaceae

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen conveniente.

Arequipa 07 de Abril del 2015

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Areqvipense* (HUSA)

