



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VIVO* DEL GEL A
BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA
RAÍZ DE *Krameria lappacea* (RATANIA) EN ANIMALES
DE EXPERIMENTACIÓN**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. DELGADO RODRIGUEZ, GIANCARLO GINETTO

<https://orcid.org/0000-0001-7913-4789>

Bach. KANA MAMANI, LUIS FELIPE

<https://orcid.org/0000-0001-5015-847X>

ASESOR

Mg. PINEDA PEREZ, NEUMAN MARIO

<https://orcid.org/0000-0001-6818-7797>

Lima – Perú

2022

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Delgado Rodriguez Giancarlo Ginetto**, con DNI **72253169** en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **Químico Farmacéutico** de título “Actividad antiinflamatoria *in vivo* del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (RATANIA) en animales de experimentación”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud catorce por ciento (**14 %**) y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 01, de febrero 2023.

Giancarlo Ginetto Delgado Rodriguez
DNI 72253169

Mg. Neuman Mario Pineda Perez
DNI 09410930

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Kana Mamani Luis Felipe**, con DNI **70393917** en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **Químico Farmacéutico** de título "Actividad antiinflamatoria *in vivo* del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (RATANIA) en animales de experimentación", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud catorce por ciento (**14 %**) y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 01, de febrero 2023.



Luis Felipe Kana Mamani
DNI 70393917



Mg. Neuman Mario Pineda Perez
DNI 09410930

Informe de originalidad - Turnitin

TESIS ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	6%
2	Submitted to Universidad Privada Antenor Orrego Trabajo del estudiante	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.unid.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en el sendero correcto de la vida y darme la fortaleza para no rendirme.

A mis padres Verónica Rodríguez y Héctor Delgado quienes son mi principal fuente de apoyo para alcanzar mis metas trazadas.

Delgado Rodríguez, Giancarlo

A mi familia por ayudarme, aconsejarme y darme todo el soporte económico para que pueda lograr mis objetivos.

Kana Mamani, Luis Felipe

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarnos la fortaleza, el coraje y la voluntad para seguir hacia adelante en este proceso.

A nuestros padres por brindarnos la ayuda necesaria a fin de poder seguir con nuestros estudios.

A la Universidad María Auxiliadora y a todas las personas que nos ayudaron durante el camino para conseguir nuestras metas.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS	16
II.1 Enfoque y diseño de la investigación	16
II.2 Población, muestra y muestreo	16
II.3 Variables de la investigación	17
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	18
II.5 Plan metodológico para la recolección de datos	18
II.6 Procesamiento del análisis estadístico	23
II.7 Aspectos éticos	23
III. RESULTADOS	25
IV. DISCUSIÓN	37
IV.1 Discusión de resultados	37
IV.2 Conclusiones	41
IV.3 Recomendaciones	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	49
ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos	49
ANEXO B: Matriz de consistencia	53
ANEXO C: Operacionalización de las variables	54
ANEXO D: Constancia de la identificación taxonómica	55
ANEXO E. Informes de laboratorio	56
ANEXO H: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Proporciones de los insumos utilizados en la preparación del gel	21
Tabla 2. Proporciones del extracto utilizado en la preparación del gel	22
Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	25
Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	26
Tabla 5. Volúmenes promedio de la inflamación inducida por Carragenina por cada hora según el grupo	27
Tabla 6. Porcentajes de inhibición de la inflamación del edema plantar inducido por Carragenina por cada hora según el grupo	28
Tabla 7. Determinación de la distribución normal de los datos	29
Tabla 8. Prueba de homogeneidad de varianzas	30
Tabla 9. Prueba de Kruskal-Wallis	30
Tabla 10. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la primera hora	31
Tabla 11. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la segunda hora	32
Tabla 12. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la tercera hora	33
Tabla 13. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la cuarta hora	33
Tabla 14. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la quinta hora	34
Tabla 15. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la sexta hora	35
Tabla 16. Ficha de observación elaborada para determinar la “Actividad antiinflamatoria <i>in vivo</i> del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (ratania) en animales de experimentación” mediante el método “Edema inducido por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata”.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Volúmenes promedio de la inflamación frente al tiempo transcurrido	27
Figura 2. Porcentajes de inhibición de la inflamación frente al tiempo transcurrido	28
Figura 3. Recolección de la muestra vegetal	58
Figura 4. Selección de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	58
Figura 5. Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	59
Figura 6. Gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	59
Figura 7. Los animales de experimentación en el bioterio AYRU	59
Figura 8. Aplicación de la Carragenina al 1% en la pata del animal de experimentación	60
Figura 9. Aplicación del gel diclofenaco al 1%	60
Figura 10. Aplicación del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)	61
Figura 11. Medición del volumen desplazado con el pletismómetro manual	61

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antiinflamatoria *in vivo* del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en animales de experimentación.

Materiales y métodos: Se realizó la recolección de la *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) para su posterior identificación taxonómica, luego se efectuaron procedimientos de selección, limpieza, secado y molienda. Se elaboró el extracto hidroalcohólico, el cual se sometió a la prueba de solubilidad y a la marcha fitoquímica. Posteriormente, se inició la determinación de la actividad antiinflamatoria mediante el edema inducido por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata, para lo cual se utilizó 30 ratas de la especie *Rattus norvegicus*, las cuales se dividieron en cinco grupos, dos de ellos fueron los grupos controles (diclofenaco al 1% y placebo) y los otros tres grupos fueron con gel a base del extracto (1, 2 y 3%), se aplicó la Carragenina por vía subcutánea y luego se midió el volumen de las patas tratadas hasta las seis horas con un pletismómetro manual.

Resultado: El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) fue soluble en solventes polares (agua, etanol, metanol y diclorometano). Además, se identificó principalmente la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y sesquiterpenlactonas. La inhibición de la inflamación a la sexta hora fue de 14.63 %, 30.08 % y 88.62 % a las concentraciones del 1 %, 2 % y 3 % del gel, asimismo, el gel al 3 % presentó actividad antiinflamatoria similar al diclofenaco al 1 %, mientras que las demás concentraciones (1% y 2%) presentaron actividad antiinflamatoria inferior.

Conclusión: El gel a base de base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presentó actividad antiinflamatoria sobre el edema inducido por Carragenina en la pata de la especie *Rattus norvegicus*.

Palabras clave: *Krameria lappacea*, antiinflamatorio, gel, Carragenina, edema plantar.

ABSTRACT

Objective: To determine the in vivo anti-inflammatory activity of the gel prepared from the hydroalcoholic extract of the root of *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) in experimental animals.

Materials and methods: *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) was collected for subsequent taxonomic identification, then selection, cleaning, drying and grinding procedures were carried out. The hydroalcoholic extract was prepared, which was subjected to the solubility test and phytochemical march. Subsequently, the determination of the anti-inflammatory activity was started by means of the edema induced by Carrageenan in the subplantar aponeurosis of the rat paw, for which 30 rats of the species *Rattus norvegicus* were used, which were divided into 5 groups, Two of them were the control groups (diclofenac 1% and placebo) and the other three groups were with gel of the extract (1%, 2% and 3%), Carrageenan was applied subcutaneously and then the volume of the treated paws was measured up to 6 hours with a manual plethysmometer.

Result: The hydroalcoholic extract of *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) root was soluble in polar solvents (water, ethanol, methanol and dichloromethane) and the presence of phenolic compounds, flavonoids and sesquiterpenlactones was identified. The inhibition of inflammation at the sixth hour was 14.63 %, 30.08 % and 88.62 % at concentrations of 1 %, 2 % and 3 % of the gel, likewise, the gel at 3% presented anti-inflammatory activity similar to diclofenac at 1%, while the other concentrations (1 % and 2 %) presented lower anti-inflammatory activity.

Conclusions: The gel based on hydroalcoholic extract of *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) root showed anti-inflammatory activity on Carrageenan-induced edema in the paw of *Rattus norvegicus* species.

Key words: *Krameria lappacea*, anti-inflammatory, gel, Carrageenan, plantar edema.

I. INTRODUCCIÓN

La inflamación es el resultado de la alteración del estado homeostático del cuerpo humano producido por agentes exógenos y endógenos, activando en el organismo un mecanismo de defensa, reparación y adaptación frente a las infecciones y tejidos dañados. Debido a la amplia variedad de causas que originan este problema es considerada una de las más importantes razones de visita a un consultorio médico en el mundo^{1,2}.

A nivel mundial en el año 2019 se produjeron 714 millones de casos de lesiones³, la causa más recurrente que origina estos sucesos son los accidentes sufridos en la vía pública⁴. Además, la artritis, una enfermedad que afecta a las articulaciones causando inflamación⁵, tiene una prevalencia del 0.2 % a 1.2 % a nivel global⁶.

En el Perú los más importantes desencadenantes de la inflamación son las lesiones y las enfermedades, según el Repositorio Único Nacional de Información en Salud, en el año 2021 hubo 736 775 casos de traumatismos, siendo estas cifras similares a las de los años anteriores⁷. Además, hubo 72 362 casos de artritis y 2 377 casos de gota reportados por los establecimientos de salud en el 2021⁷, también se conoce que por cada hombre diagnosticado con esta enfermedad hay seis mujeres que la padecen⁸. La alta incidencia de causas que pueden ocasionar inflamación se ven reflejadas en la gran cantidad de prescripciones de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, los cuales presentan una serie de efectos secundarios del tipo gástrico, renal y hematológico⁹. Es por eso que se necesitan nuevos fármacos adquiridos de origen natural, los cuales busquen ser alternativas o complementos a tratamientos que generen los daños antes mencionados¹⁰.

Nuestro país presenta una gran biodiversidad de flora, sin embargo, solo el 60% ha sido estudiada, dentro de las cuales se encuentran 5 000 especies de plantas con principios terapéuticos conocidos y empleados por la población¹¹. Cerca del 80 % de las personas en el Perú tienen conocimientos acerca de la fitoterapia y se estima que el 13.6 % de la población usa plantas medicinales arbustivas¹², entre ellas se encuentra la *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson,

este arbusto fue utilizado por los pobladores del sur y norte de América, como remedio para las afecciones bucales que padecían¹³. Luego que fue introducido en el mercado europeo se descubrieron nuevas formas de uso terapéutico, siendo los más importantes sus efectos antiinflamatorios, astringentes, cicatrizantes, antibacterianos, etc¹³.

De acuerdo con la situación problemática se redactó la pregunta principal de la investigación:

¿Cuál será la actividad antiinflamatoria *in vivo* que presente el gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en animales de experimentación?

Asimismo, las preguntas secundarias son:

- ¿Cuál será la composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)?
- ¿Cuál será la concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presentará mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido?
- ¿Cuál será el efecto antiinflamatorio que presentará el gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en comparación con el gel de diclofenaco al 1 %?

La *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson es una especie vegetal que se desarrolla en zonas andinas del territorio peruano a una altitud de 500 a 3 000 m.s.n.m, siendo su hábitat óptimo los campos montañosos, pedregosos, arenosos y secos¹⁴. La Ratania es una especie hemiparásita que florece y produce sus frutos durante todo el año, además, su forma de propagación puede ser mediante semillas o esquejes^{14,15}.

Este arbusto puede llegar a tener una altura de 30 a 80 cm aproximadamente, asimismo, presenta muchas ramas alcanzando un diámetro de 150 cm, el color

característico de las flores es rosa púrpura, inclusive son aceitosas y zigomorfas, la forma de las hojas es ovadas con un largo de 10 a 15 mm, su semilla se encuentra en el interior del fruto, siendo este último una cápsula con una capa dura, espinosa y una anchura de 1.5 cm^{14,16}. La raíz es ramificada y es la parte más usada, puesto que se utiliza con fines terapéuticos, principalmente como antiinflamatorio¹³.

La actividad antiinflamatoria es dada por los metabolitos secundarios que posee en su composición¹³. El ritidoma de la raíz tiene 40 % de taninos y las raíces poseen alrededor del 8 al 18 %^{13,16}, también presentan compuestos como flavonoides, lactonas, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas, sustancias amargas y azúcares reductores¹⁷.

La inflamación es la reacción inicial del cuerpo frente a agresiones producidas por factores mecánicos, químicos o infecciosos¹⁸. Desde la antigüedad los pobladores ya tenían conocimiento sobre la inflamación y así lo demuestra el romano Celso, el cual describió los cuatro puntos cardinales de la inflamación, estos son el calor, rubor, dolor y tumor, los dos primeros suceden por el aumento de flujo sanguíneo a la zona, el siguiente aparece por la acción de mediadores químicos que actúan sobre las terminaciones nerviosas, y el último se da por el aumento de células inmunes en el lugar y por la aparición del edema¹⁹.

El proceso de la inflamación aguda transcurre por la vasodilatación, la cual es mediada por la acción de la histamina, el óxido nítrico y otros mediadores más, los cuales actúan sobre el tejido vascular produciendo el aumento de la permeabilidad de los vasos, debido a esto las arteriolas aumentan su tamaño y provocan la liberación de sustancias hacia el exterior de los capilares, estos se denominan exudados. El aumento de la permeabilidad vascular se condiciona por la liberación de diferentes quimiocinas, como la histamina, bradicinina y leucotrienos. Esta contracción producirá el desprendimiento de las células necrosadas, dejando espacios intercelulares por donde saldrá el exudado. Para que los leucocitos puedan abandonar la circulación tienen que marginarse, luego ocurre el rodamiento donde los mismos leucocitos tratan de adherirse al endotelio y finalmente ocurre la adhesión de los leucocitos al endotelio, estos procesos están mediados por las glucoproteínas selectinas y las adhesinas. Los

factores quimiotácticos atraen las células de defensa al lugar donde ha ocurrido la lesión, luego que se logra esta atracción ocurre la diapédesis, proceso por el cual los elementos formes migran de los capilares hacia la zona dañada con la función de contrarrestar y fagocitar los elementos causantes del daño²⁰.

A nivel Internacional tenemos los siguientes antecedentes:

Debido a que los estudios de la especie *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson son escasos, se utilizó investigaciones de especies del mismo género.

Silva, R. (2020), aisló e identificó los constituyentes fitoquímicos de la raíz de la *Krameria tomentosa* A.St.-Hil mediante métodos espectroscópicos. Se encontró la presencia de algunas clases de metabolitos secundarios en extracto etanólico, entre ellas podemos mencionar las siguientes: una ceramida, un compuesto fenólico, un polímero de peróxido cíclico, kramecina y un neolignano. Estos resultados contribuyen al conocimiento de la familia Krameriaceae, impulsando el desarrollo de nuevos estudios²¹.

Lima, M. (2018), identificó el perfil fitoquímico e investigó las propiedades farmacológicas del extracto acuoso de las ramas de la *krameria tomentosa* A.St.-Hil, mediante el método de cromatografía en capa fina, se reveló la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas y proantocianidinas condensadas, las cuales son las principales clases de metabolitos secundarios del extracto. Además, presentó una excelente actividad antioxidante, no presentó actividad antimicrobiana en bacterias gram negativas y a través de ensayos de citotoxicidad se determinó su actividad antineoplásica²².

Koeberle, A. et al (2017), realizaron una revisión de productos naturales que presentan actividad antiinflamatoria, indicaron que el extracto lipofílico de las raíz de *krameria lappacea* posee una potente actividad antiinflamatoria relacionada a la presencia de derivados de lignanos, los cuales inhiben la ciclooxigenasa-1 y -2, 5-lipoxigenasa y la prostaglandina E₂ sintasa-1 microsomal del proceso inflamatorio²³.

A nivel Nacional tenemos los siguientes Antecedentes:

En vista de que hay pocas investigaciones actuales sobre la especie *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson y su género, se utilizó un antecedente del mismo rubro de la investigación que estudia la actividad antiinflamatoria.

Naveda, D. et al (2021), determinaron el efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Arracacia xanthorrhiza* (Arracacha). Se empleo el método de inducción por Carragenina en la zona subplantar de la pata del animal. La concentración de 3 % presentó actividad antiinflamatoria similar al diclofenaco de 1 %, mientras que las concentraciones 1 % y 2 % del gel presentaron una efectividad menor al control positivo²⁴.

Almenara, K. (2019), evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea*. Se empleó el método de inducción de edema subplantar por Carragenina en la pata del animal. Se usaron concentraciones de 1 y 2.5%, y gel diclofenaco al 1% como control positivo, indicando que el extracto al 2.5% presentó mayor porcentaje de inhibición (98.5%) en comparación con el extracto al 1% (95.7%) y el gel diclofenaco al 1% (97.5%)²⁵.

Mendoza, J. et al (2014), realizaron el estudio fitoquímico e histoquímico de la raíz, tallo y hoja de *Krameria lappacea* (Ratania). Se usó solventes polares como diclorometano, etanol y agua, posteriormente se realizó la marcha fitoquímica para identificar los metabolitos secundarios. En la raíz se identificó con el extracto de diclorometano (Aceites y grasas), con extracto etanólico (compuestos fenólicos, quinonas, saponinas, azúcares reductores, lactonas, cumarinas y flavonoides) y con extracto acuoso (taninos, sustancias amargas y astringentes, flavonoides y saponinas)¹⁷.

La presente investigación tiene como objetivo principal:

Determinar la actividad antiinflamatoria *in vivo* del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en animales de experimentación.

Asimismo, los objetivos específicos son:

- Determinar la composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).
- Determinar la concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.
- Comparar la actividad antiinflamatoria del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) respecto al gel de diclofenaco al 1%.

La revisión del marco teórico tratado anteriormente nos permitió plantearnos la siguiente hipótesis general:

El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta actividad antiinflamatoria *in vivo* en animales de experimentación.

Las hipótesis específicas:

- El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta una composición con actividad antiinflamatoria.
- Existe una concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta un mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.
- El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta un efecto antiinflamatorio similar en comparación con el gel de diclofenaco al 1%.

El presente estudio nos permitió conocer nuevas alternativas medicinales enfocadas en mitigar la inflamación, que sean eficaces y seguras, donde las plantas terapéuticas tienen un papel fundamental, ya que, estas poseen componentes que intervienen en los procesos inflamatorios, sin ocasionar efectos adversos que causan los antiinflamatorios dispensados en el mercado. Asimismo, se busca contribuir con nuevos conocimientos a la comunidad científica.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque del estudio es cuantitativo, porque los datos de la investigación fueron recolectados mediante procedimientos estandarizados que medirán las variables, dando como resultado información numérica, la cual fue analizada estadísticamente²⁶.

El diseño es experimental, puesto que, en un ambiente controlado se manipuló la variable independiente con la intención de generar un efecto en la variable dependiente y de este modo se analizó los hechos ocurridos en una situación controlada²⁶.

El tipo de estudio es prospectivo, porque los datos recolectados se obtuvieron de acuerdo a los hechos que transcurrieron en la investigación y longitudinal debido a que la variable dependiente se mide en distintas ocasiones²⁷.

II.2 Población, muestra y muestreo

Población: Se recolectó 1 kg de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en el departamento de Arequipa, Provincia de Arequipa, Distrito de Yarabamba (GPS 16°34'25.4"S 71°28'27.2"W).

Muestra: La cantidad de raíz que se utilizó para la elaboración del extracto fue de 0.7 kg.

Unidad de análisis: Son 30 Ratas albinas machos de la especie *Rattus norvegicus* y de la cepa Holtzman con pesos de 180 ± 30 gramos, las cuales se dividieron en cinco grupos de seis individuos cada uno. Estas se obtuvieron del Bioterio del Instituto Nacional de Salud del Perú.

La aclimatación de estos animales fue en el bioterio del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU, donde se les proporcionó las mismas condiciones de vida en aspectos alimentarios y ambientales (temperatura y humedad), este proceso se realizó durante dos semanas. Antes del inicio del estudio se mantuvo en ayunas a estos animales durante 12 horas²⁸.

El muestreo fue de tipo no probabilístico, porque no se tomó en cuenta una muestra representativa de la población, más bien se realizó la elección de la muestra mediante criterios de selección²⁶.

Los criterios de inclusión que cumplieron los animales de experimentación son los siguientes: Tener pesos de 180 ± 30 gramos, una edad de dos a tres meses y que sean machos²⁴.

Los criterios de exclusión que determinaron la no utilización de los animales son los siguientes: Lesiones, enfermedades, que sean hembras y la muerte durante la experimentación²⁴.

II.3 Variables de investigación

Variable independiente: Gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratanía).

Definición conceptual: Forma farmacéutica semisólida formada por un solvente espesado por sustancias de naturaleza coloidal y por el extracto, el cual le brinda la actividad terapéutica.

Definición operacional: Elaboración del gel añadiendo el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) a las concentraciones del 1 %, 2 % y 3 %.

Variable dependiente: Actividad antiinflamatoria *in vivo*.

Definición conceptual: Característica terapéutica de un compuesto para reducir o inhibir la inflamación de una determinada zona afectada.

Definición operacional: Estimulación de un edema subplantar, mediante la Carragenina al 1 % en cinco grupos de ratas, a las cuales se le aplicó tópicamente el gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania), con la finalidad de conocer el volumen desplazado a diferentes horas con la ayuda de un Pletismómetro manual.

II.4 Técnicas e instrumento de recolección de datos

Para la actividad antiinflamatoria se utilizó el método denominado Edema inducido por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata (Winter C. y Risley E.), el instrumento de medición es el pletismómetro manual, para la recolección de datos se utilizó una ficha de observación de recopilación, la cual fue adaptada por los investigadores para este estudio.

En la marcha fitoquímica (Olga Lock de Ugaz) y la prueba de solubilidad (Olga Lock de Ugaz) se utilizó una ficha de recolección de datos adaptada por los investigadores, donde se colocó los resultados obtenidos y observados de cada prueba según su grado de intensidad.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Recolección, secado y almacenamiento de la muestra

La raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson se recolectó con herramientas de cultivo, se realizó la extracción de forma cuidadosa sin dañar el órgano subterráneo, luego se sacudió para eliminar los residuos e impurezas¹⁵. Posteriormente, se guardó en bolsas de papel Kraft con pequeños orificios y se rotuló con los datos de campo²⁹.

Luego de la recolección, se seleccionó la muestra, eligiendo las partes de la raíz que ofrecieron buenas condiciones para su uso y se descartó todas las raíces que presentaron contaminantes como hongos, insectos etc., luego se lavó con abundante agua para eliminar cualquier residuo²⁸.

Una vez seleccionada la muestra se procedió al secado durante 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente, se guardó las raíces en paquetes hechos de papel Kraft y se llevó a un equipo de secado. Luego de obtener la muestra totalmente seca, se procedió a pulverizarla con la ayuda de un mortero, disminuyendo su volumen hasta obtener partículas pequeñas y homogéneas³⁰. La muestra adquirida se guardó en frascos de vidrio color ámbar lejos de la luz solar y en un ambiente sin humedad³¹.

II.5.2 Elaboración del extracto

El extracto hidroalcohólico se realizó en el Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU.

La obtención del extracto se realizó siguiendo el método de maceración propuesto por Cytec (1995), para ello se utilizó 700 gr de la muestra pulverizada en 1 000 mL de alcohol etílico al 70 %, se dejó macerar a lo largo de 15 días en un entorno libre de luz solar, protegida de la humedad y a temperatura ambiente; una vez obtenida la maceración se procedió a remover las impurezas con la ayuda del papel filtro Whatman 40, posteriormente, se utilizó la estufa para eliminar el solvente a una temperatura de 40°C, una vez obtenido el extracto seco se colocó en un recipiente de vidrio de color ámbar con tapa, el cual le permitió su óptimo almacenamiento²⁸.

II.5.3 Prueba de solubilidad

Este procedimiento se realizó siguiendo el método propuesto por Olga Lock de Ugaz, el cual consiste en determinar la solubilidad de la muestra en diferentes soluciones de polaridad ascendente, el proceso se realizó en el Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU.

En cada tubo de ensayo se colocó 20 mg del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania), posteriormente, se añadió 1 mL de cada solvente (Agua destilada, Metanol, Etanol 96 %, Etanol 70 %, Diclorometano, Cloroformo, N-hexano y Éter dietílico), por último, se agitó y se esperó hasta 15 minutos para observar los resultados³².

II.5.4 Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica se realizó siguiendo el método propuesto por Olga look de Ugaz, esta prueba se realizó en el Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU.

La determinación de los metabolitos secundarios en la muestra se realizó siguiendo diferentes métodos cualitativos, los cuales se describen a continuación:

Para estos procesos se disolvió 1 gramo del extracto seco en 10 mL de etanol al 70 % con la ayuda de un agitador magnético.

Identificación de compuestos fenólicos

En el tubo de ensayo se colocaron 5 gotas de la muestra y se procedió a mezclar con 3 gotas de cloruro de Hierro al 1 %. Si el ensayo resultó positivo este tomará un color azul o verde petróleo³².

Identificación de flavonoides

Al extracto (1 mL) se le agregó pequeños trozos de limadura de magnesio metálico, posteriormente, se le añadió por las paredes del tubo de ensayo el ácido clorhídrico concentrado. Si el ensayo resultó positivo, este tomará un color rojizo³².

Identificación de taninos

Al extracto (1 mL) se le adicionó una gota del reactivo gelatina al 1 %, luego se agitó por aproximadamente 5 minutos. Si el ensayo resultó positivo se podrá visualizar un precipitado blanco³².

Identificación de quinonas

Al extracto (1 mL) se le agregó 1 mL de éter de petróleo, posteriormente, se le añadió 5 gotas de hidróxido de sodio al 5 %. Si el ensayo resultó positivo se podrá visualizar un color rojo en la fase acuosa³².

Identificación de alcaloides

Al extracto (1 mL) se le añadió el reactivo de Dragendorff, aproximadamente 3 gotas. Si el ensayo resultó positivo se podrá visualizar un precipitado rojo o naranja³².

Al extracto (1 mL) se le añadió el reactivo de Mayer, aproximadamente 3 gotas. Si el ensayo resultó positivo se podrá visualizar un precipitado blanco³².

Identificación de sesquiterpenlactonas

Al extracto(1 mL) se le añadió el reactivo de Baljet A y B, aproximadamente 0.5 mL de cada uno. Si el ensayo resultó positivo, este presentara una coloración rojiza³².

Identificación de saponinas

Al extracto (1 mL) se le añadió 5 mL de agua, luego se agitó por aproximadamente 5 minutos. Si el ensayo resultó positivo, este presentará espuma en la superficie por 2 minutos y a una altura de 0.2 cm³².

II.5.5 Elaboración del gel

La elaboración del gel se realizó según el método utilizado por Lily Mayorga y Naveda Ysla, se realizó en el laboratorio del Centro de investigación en métodos alternativos a la experimentación animal CIMAEXAN.

Se utilizaron los siguientes componentes:

Tabla 1. Proporciones de los insumos utilizados en la preparación del gel

Insumo	Cantidad
Carbopol 940	0,4 g
Glicerina	0,5 g
Trietanolamina	c.s.p.
Alcohol etílico 96°	c.s.p. 100 mL
Agua destilada	25 mL

Fuente. Elaboración propia.

En un envase con tapa se colocó el agua destilada junto a la glicerina, posteriormente se añadió el carbopol y se homogenizó la preparación. Se dejó reposar hasta que el carbopol este completamente hidratado y se agregó el

alcohol. Luego se verificó el pH (6 o 7) y de acuerdo a eso se adiciona la cantidad suficiente de trietanolamina, o hasta que se forme la consistencia del gel²⁴.

Para obtener los geles a las concentraciones del 1 %, 2 % y 3 % se utilizó las siguientes cantidades²⁴:

Tabla 2. Proporciones del extracto utilizado en la preparación del gel

Concentración	Cantidad de gel base	Cantidad de extracto
1 %	100 mL	1 g
2 %	100 mL	2 g
3 %	100 mL	3 g

Fuente. Elaboración propia.

II.5.6 Actividad antiinflamatoria

La determinación de la actividad antiinflamatoria se realizó siguiendo el método propuesto por Winter C. y Risley E. modificado por Villena y Arroyo (2012), en el laboratorio del Centro de investigación en métodos alternativos a la experimentación animal CIMAEXAN.

El procedimiento que se utilizó para determinar la actividad antiinflamatoria del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson será el Edema inducido por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata³³.

Antes de la aplicación del agente inflamatorio, se midió el volumen basal de la pata derecha trasera de la rata. Seguidamente, se aplicó por vía subcutánea en la aponeurosis supplantar 0.1 mL de la solución de Carragenina al 1 % (disuelta en cloruro de sodio al 0.9 %) ³⁴.

Pasada media hora se aplicó los geles terapéuticos de la siguiente manera:

- Grupo problema N° 1: Se aplicó 0.5 mL del gel a base del extracto hidroalcohólico de la ratania al 1 %, en el edema inducido

- Grupo problema N° 2: Se aplicó 0.5 mL del gel a base del extracto hidroalcohólico de la ratania al 2 %, en el edema inducido
- Grupo problema N° 3: Se aplicó 0.5 mL del gel a base del extracto hidroalcohólico de la ratania al 3 %, en el edema inducido
- Grupo - control positivo N° 4: Se aplicó 0.5 mL del gel diclofenaco al 1 %, en el edema inducido.
- Grupo - control negativo N° 5: Se aplicó 0.5 mL del gel sin el compuesto activo en el edema inducido.

Cada hora se midió el volumen de la inflamación hasta las 6 horas después de la aplicación de la Carragenina, en esta operación se usó el pletismómetro manual. Para determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación se usó la siguiente formula³⁴:

$$\% \text{ INHIBICIÓN} = \frac{(Vd - Vo)_{control} - (Vd - Vo)_{tratado}}{(Vd - Vo)_{control}} \times 100$$

Vd = Volumen desplazado a las 1,2,3,4,5 y 6 horas luego de la aplicación de la Carragenina.

Vo = Volumen desplazado antes de la aplicación de la Carragenina.

II.6 Procesamiento de los análisis estadísticos

La información obtenida se analizó de acuerdo con la estadística inferencial, donde se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y el análisis post hoc se desarrolló mediante el test de Games Howell, debido a que, no se cumplió con los criterios de normalidad (Prueba de Shapiro Wilk) y homocedasticidad (homogeneidad de varianzas). Los softwares estadísticos que se usaron para desarrollar el análisis de los datos fueron Microsoft Excel y SPSS versión 21.

II.7. Aspectos éticos

En el presente trabajo se tendrá en cuenta los principios éticos dispuestos en la guía de manejo y cuidado de animales del laboratorio - Instituto Nacional de Salud, garantizando el respeto, afecto y gratitud hacia estos seres vivos³⁰.

Asimismo, toda la información utilizada en este trabajo ha sido citada correctamente, la cual será verificada por el programa antiplagio Turnitin y si el resultado es negativo nos someteremos al comité de ética de la universidad y aceptaremos cualquier decisión por ser los únicos responsables.

III. RESULTADOS

III.1. Resultado sobre la prueba de solubilidad

Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

Solventes	Solubilidad
Agua	++
Etanol 96%	++
Etanol 70%	++
Metanol	+++
Diclorometano	+++
Cloroformo	-
N-hexano	-
Eter dietílico	-
Leyenda: Insoluble (-), baja solubilidad (+), Soluble (++) , Muy soluble (+++)	

Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 3, se determinó la solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) frente a distintos solventes, siendo muy soluble en Metanol y Diclorometano, soluble en Agua y Etanol e insoluble en Cloroformo, N-hexano y Éter dietílico.

III.2. Resultado sobre la marcha fitoquímica

Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

Metabolitos	Reactivo	Identificación	Resultado
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	Color verde, color azul	+++
Flavonoides	Shinoda	Coloración a rojo	++
Taninos	Gelatina	Precipitado blanco	+++
Quinonas	Bortranger	Coloración a rojo	+++
Saponinas	Agua destilada	Formación de espuma	+
Sesquiterpenlactonas	Baljet	Coloración rojo naranja	++
Alcaloides	Dragendorf	Precipitado rojo naranja	++
	Mayer	Precipitado blanco	+
Leyenda: Ausencia (-), Escasa (+), Moderada (++), Abundante (+++).			

Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 4, se identificó los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania), en el cual se encontró de forma abundante la presencia de Compuestos fenólicos, Taninos y Quinonas, se encontró de forma moderada la presencia de Flavonoides, Alcaloides y Sesquiterpenlactonas, y se encontró de forma escasa la presencia de Saponinas.

III.3. Actividad antiinflamatoria

Tabla 5. Volúmenes promedio de la inflamación inducida por Carragenina por cada hora según el grupo

Grupos	Volumen (mL)					
	1 H.	2 H.	3 H.	4 H.	5 H.	6 H.
Gel terapéutico al 1 %	3.16	3.38	3.63	3.45	3.18	2.95
Gel terapéutico al 2 %	3.13	3.30	3.52	3.30	2.92	2.65
Gel terapéutico al 3 %	2.92	3.20	3.18	2.78	2.00	1.48
Gel diclofenaco al 1 %	2.83	3.10	2.98	2.60	1.67	1.32
Gel placebo	3.13	3.50	3.82	3.55	3.37	3.22

Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 5, observamos los promedios de los datos obtenidos luego de efectuar la prueba del Edema inducido por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata.

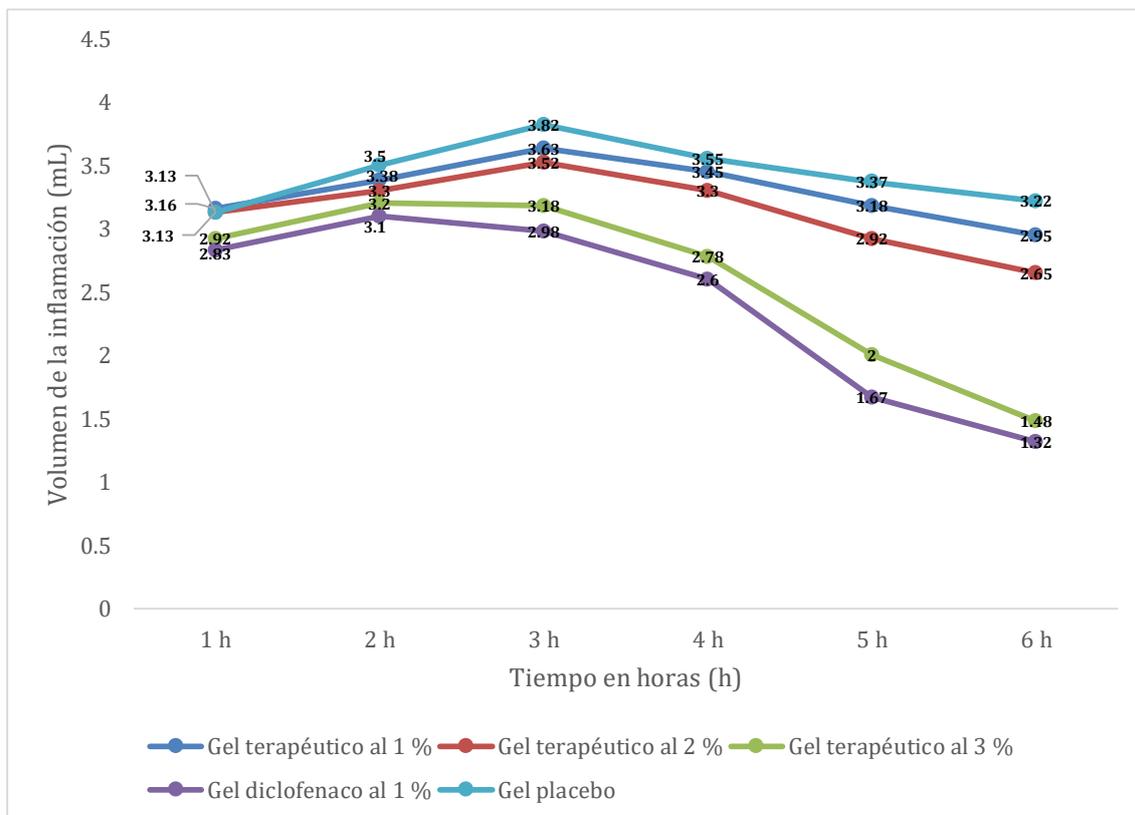


Figura 1. Volúmenes promedio de la inflamación frente al tiempo transcurrido

Tabla 6. Porcentajes de inhibición de la inflamación del edema plantar inducido por Carragenina por cada hora según el grupo

Grupos	Porcentaje de Inhibición de la inflamación					
	1 H.	2 H.	3 H.	4 H.	5 H.	6 H.
Gel terapéutico al 1 %	0.25	6.43	8.18	5.59	9.85	14.63
Gel terapéutico al 2 %	2.54	10.71	13.21	12.59	22.73	30.08
Gel terapéutico al 3 %	15.25	16.43	27.04	35.66	65.91	88.62
Gel diclofenaco al 1 %	16.10	17.86	32.08	40.56	78.03	93.50

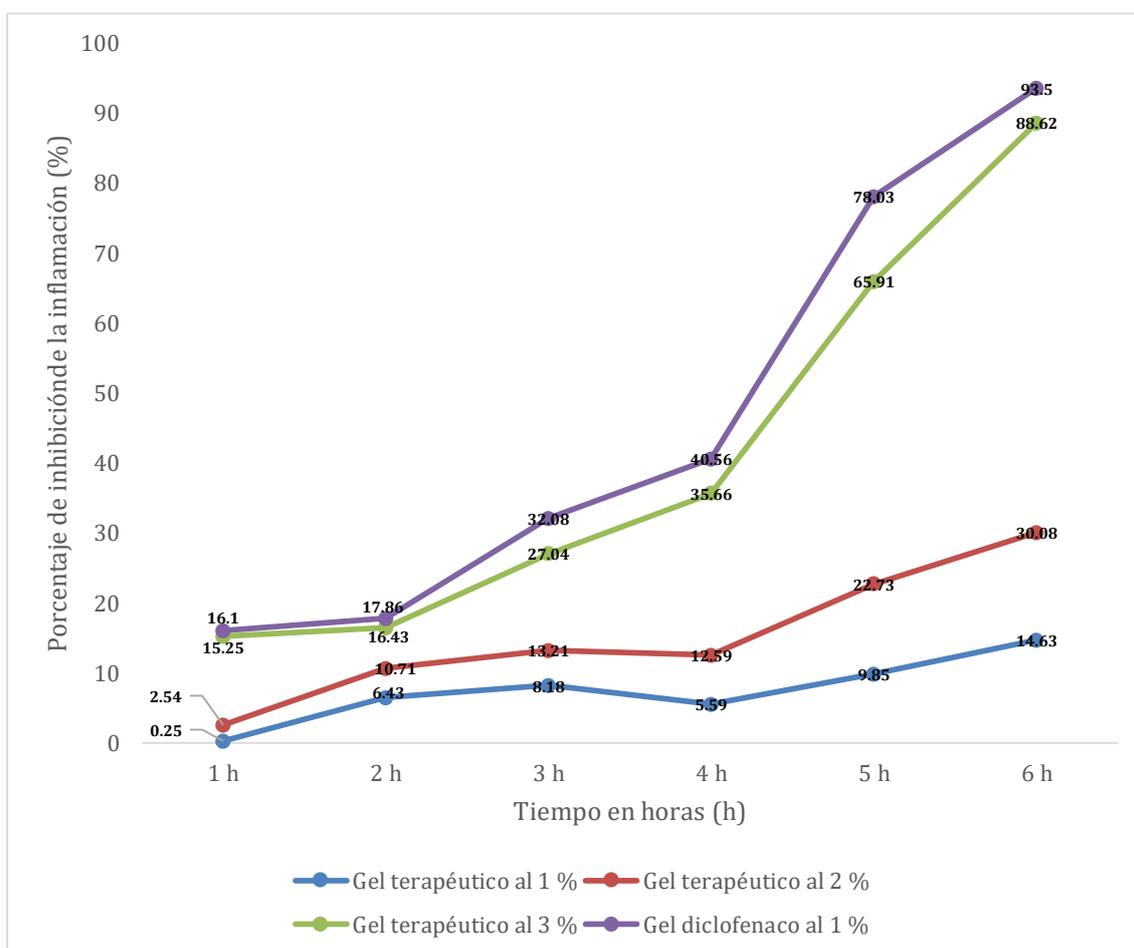


Figura 2. Porcentajes de inhibición de la inflamación frente al tiempo transcurrido

III.4. Contratación de las hipótesis

Hipótesis general

H0: El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) no presenta actividad antiinflamatoria *in vivo* en animales de experimentación.

H1: El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta actividad antiinflamatoria *in vivo* en animales de experimentación.

Tabla 7. Determinación de la distribución normal de los datos

Pruebas de normalidad			
	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
BASAL	,853	30	,001*
HORA 1	,948	30	,153**
HORA 2	,931	30	,052**
HORA 3	,921	30	,029*
HORA 4	,891	30	,005*
HORA 5	,851	30	,001*
HORA 6	,826	30	,000*

*Si la sig.< 0.05 los datos no presentan una distribución normal.

**Si la sig.> 0.05 los datos presentan una distribución normal.

Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 7 observamos que los datos no presentan una distribución normal (sig.< 0.05), debido a este criterio se decidió utilizar una prueba estadística no paramétrica para analizar los resultados.

Tabla 8. Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
BASAL	,376	4	25	,823**
HORA 1	,313	4	25	,867**
HORA 2	3,314	4	25	,026*
HORA 3	1,959	4	25	,132**
HORA 4	1,673	4	25	,188**
HORA 5	3,041	4	25	,036*
HORA 6	9,812	4	25	,000*
*Si la sig. < 0.05 no existe homogeneidad de varianzas.				
**Si la sig. > 0.05 existe homogeneidad de varianzas.				

Fuente. Elaboración propia.

En la tabla 7 observamos que, a las dos, cinco y seis horas no existe homogeneidad de varianzas (sig.< 0.05), debido a este criterio se decidió utilizar una prueba estadística no paramétrica para analizar los datos.

Tabla 9. Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis							
	BASAL	HORA1	HORA2	HORA3	HORA4	HORA5	HORA6
Chi-cuadrado	2,924	20,108	20,269	25,803	24,542	26,101	25,113
gl	4	4	4	4	4	4	4
Sig. asintót.	,571**	,001*	,001*	,001*	,001*	,001*	,001*
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.							
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.							

Fuente. Elaboración propia.

Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis con el 95 % de confiabilidad, los valores de significación obtenidos desde la primera hasta la sexta hora son menores a 0.05, por la cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis propuesta por el investigador, demostrando que hay una diferencia estadística entre las medias de los grupos terapéuticos y los grupos control.

Hipótesis específica 1

H0: El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) no presenta una composición con actividad antiinflamatoria.

H1: El extracto hidroalcohólico de la raíz *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta una composición con actividad antiinflamatoria.

De acuerdo a los resultados de la marcha fitoquímica presente en la tabla 4, se observó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, quinonas, saponinas, sesquiterpenlactonas y alcaloides en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania). Se acepta la hipótesis alternativa, puesto que se asocia la presencia de estos compuestos con la actividad antiinflamatoria.

Hipótesis específica 2

H0: No existe una concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta un mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.

H2: Existe una concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta un mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.

Tabla 10. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la primera hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,011*	P= 0,810**	P= 0,899**	P= 0,062**

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,001*	P= 0,005	P= 0,745**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 1,000**	P= 0,007
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,025*
Gel terapéutico al 3 %	6					
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.						
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.						

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 11. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la segunda hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,000*	P= 0,182**	P= 0,133**	P= 0,001*
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,000	P= 0,118**	P= 0,249**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 0,760**	P= 0,022*
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,661**
Gel terapéutico al 3 %	6					
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.						
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.						

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 12. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la tercera hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,000*	P= 0,016*	P= 0,000*	P= 0,001*
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,000*	P= 0,000*	P= 0,306**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 0,150**	P= 0,008*
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,037*
Gel terapéutico al 3 %	6					

*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.

**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 13. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la cuarta hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,000*	P= 0,501**	P= 0,027*	P= 0,001*
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,000*	P= 0,001*	P= 0,652**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 0,244**	P= 0,002*

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,009*
Gel terapéutico al 3 %	6					
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.						
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.						

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 14. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la quinta hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,000*	P= 0,112**	P= 0,061**	P= 0,000*
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,000*	P= 0,000*	P= 0,169**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 0,312**	P= 0,000*
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,002*
Gel terapéutico al 3 %	6					
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.						
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.						

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 15. Análisis post hoc: Comparación de medias entre los grupos de estudio a la sexta hora

Prueba de Games-Howell						
	N	Gel placebo	Gel de diclofenaco al 1%	Gel terapéutico al 1 %	Gel terapéutico al 2 %	Gel terapéutico al 3 %
Gel placebo	6		P= 0,000*	P= 0,149**	P= 0,013*	P= 0,000*
Gel de diclofenaco al 1%	6			P= 0,000*	P= 0,004*	P= 0,703**
Gel terapéutico al 1 %	6				P= 0,596**	P= 0,000*
Gel terapéutico al 2 %	6					P= 0,005*
Gel terapéutico al 3 %	6					
*Si la sig. < 0.05 existe una diferencia estadísticamente significativa.						
**Si la sig. > 0.05 no existe una diferencia estadísticamente significativa.						

Fuente. Elaboración propia.

Según la Prueba de Games-Howell con un nivel de confianza del 95 %, podemos afirmar estadísticamente que la actividad antiinflamatoria del gel terapéutico al 3 % es mayor, respecto a los otros tratamientos, puesto que, desde la tercera hora el valor p es menor a 0.05 en comparación con los otros geles terapéuticos de menor concentración, asimismo, presenta un valor p mayor a 0.05 cuando es comparado con el grupo positivo (diclofenaco al 1 %). Debido a esto, se acepta la hipótesis alternativa.

Hipótesis específica 3

H0: El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta un efecto antiinflamatorio similar en comparación con el gel de diclofenaco al 1%.

H3: El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta un efecto antiinflamatorio diferente en comparación con el gel de diclofenaco al 1%.

Según la Prueba de Games-Howell con un nivel de confianza del 95%, podemos afirmar que, a la sexta hora, tal como lo muestra la tabla 15, los geles terapéuticos al 1 % y 2 % son diferentes estadísticamente al gel al 1 % de diclofenaco (Sig.< 0.05), por otra parte, el gel terapéutico al 3 % es semejante estadísticamente al gel al 1 % de diclofenaco (Sig.> 0.05).

Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, en vista de que el gel al 3 % a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta una actividad antiinflamatoria similar al gel al 1 % de diclofenaco.

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

En la presente investigación se dio a conocer la actividad antiinflamatoria *in vivo* del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) mediante la inducción de un edema por Carragenina en la aponeurosis subplantar de la pata de la rata, este método es ampliamente utilizado, debido a su sencillez y a su alto grado de reproducibilidad tal como lo demuestran los estudios realizados por Almenara, K.²⁵ y Naveda, D. et al²⁴, donde utilizaron este modelo de evaluación de la actividad antiinflamatoria. Se sabe que la inflamación inducida por la Carragenina es bifásica, en la primera fase existe liberación de histamina, serotonina y quininas, la última fase es mediada por la liberación de prostaglandinas, bradiquinina, proteasa y lisosoma³⁵, esta fase se da a partir de la tercera hora, además es la más sensible a la mayoría de tratamientos antiinflamatorios³⁶.

La prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (Ratania) determinó que es muy soluble en Metanol y Diclorometano; soluble en Agua y Etanol; e insoluble en Cloroformo, Butanol y Éter dietílico, lo que indicaría preliminarmente una alta presencia de metabolitos secundarios de naturaleza polar¹⁷, los cuales se verán reflejados al realizar la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (Ratania), donde se pudo comprobar la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, quinonas, saponinas y Sesquiterpenlactonas, estos resultados son compatibles con la investigación de Mendoza, J. et al., el cual identificó la presencia de Sustancias Amargas y Astringentes, lactonas, flavonoides, taninos, quinonas y saponinas en el extracto acuoso y etanólico de la raíz de *Krameria lappacea*¹⁷. De igual forma, Lima, M., mediante el método de cromatografía en capa fina reveló la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas y proantocianidinas condensadas, a partir del extracto acuoso de las ramas de *Krameria tomentosa* A.St.-Hil²². El investigador Silva, R., mediante métodos espectroscópicos identificó una ceramida, un compuesto fenólico, un polímero de peróxido ciclico,

kramecina y un neolignano²¹. Cabe resaltar que dentro de los metabolitos secundarios encontrados los que generan mayor interés son los compuestos fenólicos, los cuales inhiben la liberación de agentes proinflamatorios²⁰, también, los flavonoides actuando sobre diversas etapas del proceso antiinflamatorio relacionadas a la inhibición de enzimas que actúan en el metabolismo del ácido araquidónico como las ciclooxigenasas, lipooxigenasas, NADPH oxidasa y radicales libres³⁷, y las sesquiterpenlactonas inhibiendo el metabolismo del ácido araquidónico por acción sobre la proteína quinasa C³⁸. Estos datos sugieren que los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico poseen una relación directa con la actividad antiinflamatoria.

El grupo al cual se le administró el gel al 3 % mostró un volumen promedio menor de inflamación a lo largo de las seis horas, respecto a los demás grupos terapéuticos (1 %, 2 %), tal como lo muestra la tabla 5, figura 1. Además, en la tabla 6, figura 2, se observan los porcentajes de inhibición de la inflamación, en donde, a la sexta hora el grupo del gel terapéutico al 3% presentó el mayor valor con un 88.62 %, mientras que los grupos terapéuticos de los geles al 1 % y 2% presentaron 14.63 % y 30.08 % respectivamente. En general, desde la primera hasta la sexta hora mediante la prueba de Games-Howell se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el grupo terapéutico del gel al 3% y los demás grupos (1% y 2%). Los resultados antes mencionados establecen que el tratamiento a base del gel al 3% presenta mayor actividad antiinflamatoria. Este estudio guarda similitud con lo reportado por Almenara K., quien demostró que el extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* al 2.5 % presentó mejor actividad antiinflamatoria en comparación con el extracto de 1 %²⁵, asimismo, otra investigación relacionada con nuestro estudio, realizada por Naveda, D. et al, indicó que el gel de mayor concentración (3 %) a base del extracto hidroalcohólico de *Arracacia xanthorrhiza Bancroft* presentó mejor efecto antiinflamatorio en comparación con los otros geles de menor concentración (1 % y 2 %)²⁴. Los resultados de estas investigaciones demuestran una relación directamente proporcional entre la concentración del tratamiento y el efecto terapéutico³⁶.

Por otra parte, se observó que el grupo control positivo (diclofenaco al 1 %) desde la primera hora presentó un menor volumen promedio de inflamación, en

comparación con los demás tratamientos, de la misma forma a la sexta hora tuvo un porcentaje de inhibición de la inflamación del 93.50%, seguido del gel al 3% con 88.62%, de acuerdo a la prueba de Games-Howell se determinó que durante las seis horas (tabla 15) el grupo control positivo presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en comparación con los grupos a los cuales se les administro los geles terapéuticos al 1 % y 2%, mientras que en comparación con el gel terapéutico al 3 % no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Estos resultados indican que los geles terapéuticos al 1 % y 2 % durante las seis horas presentaron una actividad antiinflamatoria diferente e inferior al diclofenaco al 1 %, mientras que el gel terapéutico al 3 % presentó una actividad antiinflamatoria similar. De acuerdo con el estudio realizado por Almenara. K, el extracto de la raíz de *Krameria lappacea* al 2.5 % tuvo un volumen de inflamación promedio de 1.42 MI similar al gel de diclofenaco al 1 % con un volumen de inflamación promedio de 1.62 mL²⁵. El diclofenaco es un antiinflamatorio usado para el tratamiento del dolor y la inflamación, es por eso que, es ampliamente utilizado como referencia para estos tipos de investigaciones, donde se pretende comparar la actividad antiinflamatoria³⁶.

Durante las horas de experimentación se observó que los grupos tratados con los geles terapéuticos al 1 %, 2 % y 3% disminuyeron su volumen desde la segunda hora, tal como lo detalla la tabla 5, figura 1. Asimismo, los valores del porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos tratados con los geles terapéuticos al 1 %, 2 % y 3% muestran su punto más alto a la sexta hora, de acuerdo a la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, desde la primera hasta la sexta hora existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los grupos control y los terapéuticos (tabla 9), estos resultados evidencian la actividad antiinflamatoria de los grupos tratados con los geles terapéuticos, en menor o mayor medida en comparación con los grupos control. Un estudio previo realizado por Almenara, K., donde utilizó el modelo del edema plantar en ratas inducido por Carragenina, determinando que el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* presenta actividad antinflamatoria a las concentraciones del 1 % y 2.5 %²⁵. De acuerdo a la investigación realizada por Koeberle, A, et al, indico que el extracto lipofílico de la raíz de *krameria lappacea* presenta actividad

antiinflamatoria debido a presencia de lignanos los cuales inhiben la ciclooxigenasa-1 y -2, 5-lipoxigenasa y la prostaglandina E₂ sintasa-1 microsomal del proceso inflamatorio²³. La actividad antiinflamatoria de este gel se debe a la gran cantidad de metabolitos secundarios, que actúan principalmente en la inhibición del metabolismo del ácido araquidónico³⁷, por lo cual se podría decir que esta forma farmacéutica actúa sobre la segunda fase de la inflamación aguda producida por la Carragenina³⁶.

El presente estudio experimental comprueba la actividad terapéutica de gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) sobre la inflamación aguda producida por la Carragenina.

IV.2. Conclusiones

- La marcha fitoquímica realizada al extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (Ratania), determinó de forma abundante la presencia de compuestos fenólicos, taninos y Quinonas; de forma moderada la presencia de Flavonoides, Alcaloides y Sesquiterpenlactonas y de forma escasa la presencia de Saponinas.
- El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (Ratania) al 3% presentó un efecto antiinflamatorio superior, debido a que tuvo un mayor porcentaje de inhibición de la inflamación (88.62 %), mientras que los geles terapéuticos al 1 % (14.63 %) y 2 % (30.08 %) tuvieron valores inferiores.
- El control positivo (diclofenaco al 1 %) durante las horas de experimentación presentó similitud estadística ($p > 0.05$) y resultó ligeramente superior en su porcentaje de inhibición de la inflamación (93.50 %), respecto al gel terapéutico al 3 % (88.62 %), mientras que, los demás geles presentaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) y valores inferiores con 14.63 % para el gel terapéutico al 1 % y 30.08 % para el gel terapéutico al 2 %, en comparación con el gel de diclofenaco al 1 %.
- El gel a base de base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presentó actividad antiinflamatoria sobre el edema inducido por Carragenina en la pata de la especie *Rattus norvegicus*.

IV.3. Recomendaciones

- Realizar estudios sobre la cuantificación e identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).
- Realizar investigaciones con la finalidad de determinar la seguridad y tolerancia del gel a base extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).
- Desarrollar estudios que determinen la actividad analgésica del gel a base extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).
- Realizar estudios con diferentes formas farmacéuticas para comparar la eficacia antiinflamatoria de la *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en cada una de ellas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Barreno P. Inflamación. Real Acad Ciencias Exactas, Físicas y Nat [Internet]. 2008;102:91-159. Disponible en: <https://rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>
2. Gonzáles Costa M, González Padrón AA. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Rev Habanera Ciencias Medicas [Internet]. 2007;6(5):1-15. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2008000300003&script=sci_arttext
3. The Institute for Health Metrics and Evaluation. GBD 2019 Summary of causes and risks : Injuries - Cause level 1 [Internet]. IHME. Seattle; 2020. Disponible en: https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/injuries-level-1-cause
4. Organizacion Panamericana de la Salud (OPS) & OM de la S (OMS). Un problema de salud pública [Internet]. Salud de los Trabajadores: Recursos - Preguntas Frecuentes. Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11129:amr-antimicrobial-resistance-intro&Itemid=41534&lang=es
5. Moreno Gallego I, Montañó Alonso A. Patología articular inflamatoria del anciano en Atención Primaria. Medifam [Internet]. 2002;12:266-71. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/medif/v12n4/hablemosde.pdf>
6. García de Yébenes MJ, Loza E. Artritis reumatoide: Epidemiología e impacto socio sanitario. Reumatol Clínica [Internet]. 2018;14(Supl.2):3-6. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-pdf-X1699258X18628548>
7. Registro Único Nacional de Información en Salud. Morbilidad General a Nivel Nacional [Internet]. Ministerio de Salud. 2018. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/morbilidad_HIS.asp

8. Ministerio de Salud. Se estima que en el Perú cada año se diagnostican más de 100 casos nuevos de artritis reumatoidea [Internet]. Plataforma digital única del Estado Peruano. 2019. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/27840-se-estima-que-en-el-peru-cada-ano-se-diagnostican-mas-de-100-casos-nuevos-de-artritis-reumatoidea>
9. Perea Martínez A, López Navarrete G, de la Osa Busto M, Reyes Gómez U. Antiinflamatorios no esteroideos y sus aplicaciones terapéuticas. Boletín Clínico Hosp Infant del Estado Son [Internet]. 2017;34(1). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/bolclinhosinfson/bis-2017/bis171f.pdf>
10. Villena N CA, Arroyo A JL. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (Yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. Cienc Invest. 2012;15(1).
11. Instituto Nacional de Salud. Plantas Medicinales [Internet]. INS. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales>
12. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. OPS [Internet]. 2019;2. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
13. Simpson BB. The past and present uses of rhatany (*Krameria*, *Krameriaceae*). Econ Bot [Internet]. 1991;45(3):397-409. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF02887080>
14. Mostacero León J. Características Edafoclimáticas Y Fitogeográficas de Las Plantas Medicinales del Dominio Andino Noroccidental del Perú, durante 1976 al 2004. Tesis para optar el grado de Doctor en Medio Ambiente. Universidad Nacional de Trujillo; 2005.
15. Weigend M, Dostert N. Manejo sustentable de ratania en Perú *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & Simpson. 2008;19.

16. Dostert N, Caceres F, Brokamp G, Weigend M. Propagación in situ de ratania - *Krameria lappacea* (Krameriaceae): factores limitantes de la propagación natural y efectos de resiembra. Rev Peru Biol. 2018;25(1):30.
17. Mendoza Villanueva J, Minaya Poma S. Estudio Fitoquímico e histoquímico de la raíz , tallo y hoja de *Krameria lappaceae* «ratania» procedente de la provincia de Huaraz-Ancash 2013 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en: [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3727/Mendoza Villanueva%2C Jeraldine.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3727/Mendoza_Villanueva%2C_Jeraldine.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
18. Garcia Alonso I. Inflamación [Internet]. 2018. p. 1-3. Disponible en: http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/patologia/Apoyo/Cap_1_La_inflamaci%F3n.pdf
19. Bordés González R, Martínez Beltrán M, García Olivares E, Guisado Barrilao R. El proceso inflamatorio. Universidad de Granada Departamento de Enfermería y Fisioterapia Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud. 2010;11-21.
20. Martinez Diaz HL. Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de *Argemone mexicana* (“Cardo santo”) [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/5069/Diaz_mh.pdf?sequence=3&isAllowed=y
21. Silva de Andrade R. Contribuição ao conhecimento fitoquímico de *Krameria tomentosa* A.St.-Hil. (KRAMERIACEAE). [Paraíba]: Universidade Federal da Paraíba; 2020.
22. LIMA VIEIRA DE MELO MC. Avaliação da toxicidade e do potencial antioxidante, antimicrobiano e antineoplásico do extrato aquoso de ramos de *Krameria tomentosa* A. ST. -HIL (KRAMERIACEAE). [Recife]: Universidade Federal de Pernambuco; 2018.
23. Koeberle A, Werz O. Natural products as inhibitors of prostaglandin E2 and pro-inflammatory 5-lipoxygenase-derived lipid mediator biosynthesis.

Biotechnol Adv. 2018;36(6):1709-23.

24. Naveda Ysla DN, Sanchez Fernandez LR. Actividad antiinflamatoria del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Arracacia xanthorrhiza* (ARRACACHA) por inducción experimental en ratas albinas (Holtzman). Universidad Maria Auxiliadora; 2021.
25. Almenara Viña K. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* RACTANIA EN *Rattus rattus var. albinus* [Internet]. Universidad Catolica los Angeles de Chimbote; 2019. Disponible en:
http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/17698/EXTRACTO_RAIZ_ALMENARA_VINA_KELY_GUISELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
26. Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la Investigación. 6a Edición. McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES SADC., editor. 2014.
27. Manterola C, Quiroz G, Salazar P, García N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. Rev Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2019;30(1):36-49. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2018.11.005>
28. Huamanteca Manrique M, Rodríguez Rodríguez MA. Efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens Mill* (Marco) en ratas albinas. Universidad Interamericana; 2019.
29. Avalos Capristan CL. Efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida en *Rattus rattus var. Norvegicus*. Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
30. F Fuentes, R Mendoza, A Rosales, A Cisneros. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Raton [Internet]. Instituto nacional de salud. 2008. 1-54 p. Disponible en: www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../GUIA_ANIMALES_RATON.pdf

31. MAYORGA RUIZ LJ. Elaboración de un gel antiinflamatorio y antibacteriano a base de Muña (*Minthostachys mollis*) realizado en el Laboratorio del Centro Médico Universitario Pedro P. Díaz de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa [Internet]. Universidad Nacional de San Agustín; 2020. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/11152/UPmarulj1.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

32. De Ugaz OL. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edición. Segunda Ed. Perú: Universidad Católica del Perú; 1994.

33. Winter C, Risley E, Nuss G. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. 1983;2(42):1983.

34. Chilquillo Torres HM, Cervantes Macizo RG. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira" [Internet]. Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2017. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6416/Chilquillo_th.pdf?sequence=3&isAllowed=y

35. Gomez Estrada HA, Gonzales Ruiz KN, Domingo Medina J. Anti-inflammatory Activity of Natural Products. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas [Internet]. 2011;10(3):182-217. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85618379003.pdf>

36. Gavidia Sánchez JJ. Análisis de la actividad antiinflamatoria y analgésica de la metformina en el cuadro agudo [Internet]. Universidad San Martín de Porres; 2014. Disponible en: https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/1334/Sanchez_jj.pdf?sequence=3&isAllowed=y

37. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. An la Fac Med [Internet]. 2011;72:231-7. Disponible

en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000400002&nrm=iso

38. Cañavate Ríos JL. Fitoterapia de la inflamación. Nat Medicat Rev médica para el Estud y difusión las Med Altern [Internet]. 1994;(37):80-5. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4989385>

ANEXOS

ANEXO A. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

Prueba de solubilidad	
Solventes	Solubilidad
Agua	
Etanol	
Metanol	
Cloroformo	
Butanol	
Eter de petróleo	
Leyenda: Insoluble (-), baja solubilidad (+), Soluble (++) , Muy soluble (+++)	

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

Metabolitos	Reactivo	Identificación	Resultado
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	Color verde, color azul	
Flavonoides	Shinoda	Coloración a rojo	
Taninos	Gelatina	Precipitado blanco	
Quinonas	Bortranger	Coloración a rojo	
Saponinas	Agua destilada	Formación de espuma	
Sesquiterpenlactonas	Baljet	Coloración rojo naranja	
Alcaloides	Dragendorf	Precipitado rojo naranja	
	Mayer	Precipitado blanco	
Leyenda: Ausencia (-), Escasa (+), Moderada (++) , Abundante (+++).			

Fuente. Elaboración propia.

Grupos	Unidad de análisis				Carragenina administrada por vía Subcutánea		Gel administrado vía tópica			Medidas						
	N°	Peso	Edad	Sexo	Mililitros	Hora de aplicación	Tipo de gel aplicado	Gramos	Hora de aplicación	Basal (ml)	1 hora (ml)	2 horas (ml)	3 horas (ml)	4 horas (ml)	5 horas (ml)	6 horas (ml)
	18															
Grupo - control positivo N° 4	19															
	20															
	21															
	22															
	23															
	24															
Grupo - control negativo N° 5	25															
	26															
	27															
	28															
	29															
	30															

Fuente. Elaboración propia.

ANEXO B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál será la actividad antiinflamatoria <i>in vivo</i> que presente el gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en animales de experimentación?	Determinar la actividad antiinflamatoria <i>in vivo</i> del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en animales de experimentación.	El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta actividad antiinflamatoria <i>in vivo</i> en animales de experimentación.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuál será la composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)?	Determinar la composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).	El extracto hidroalcohólico de la raíz <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta una composición con actividad antiinflamatoria.
¿Cuál será la concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presentará mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido?	Determinar la concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.	Existe una concentración del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) que presenta un mayor efecto antiinflamatorio sobre el edema inducido.
¿Cuál será el efecto antiinflamatorio que presenta el gel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) en comparación con el gel de diclofenaco al 1%?	Comparar la actividad antiinflamatoria del gel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) respecto al gel de diclofenaco al 1%.	El gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) presenta un efecto antiinflamatorio diferente en comparación con el gel de diclofenaco al 1%.

ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
<p>Variable independiente: Gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania).</p>	<p>Forma farmacéutica semisólida formada por un solvente espesado por sustancias de naturaleza coloidal y por el extracto blando, el cual le brinda la actividad terapéutica.</p>	<p>Elaboración del gel añadiendo el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania) a las concentraciones del 1, 2 y 3 %.</p>	<p>Concentraciones del gel a base del extracto hidroalcohólico .</p>	<p>%</p>	<p>Numérica</p>	<p>3</p>	<p>-Concentración del gel al 1 % -Concentración del gel al 2 % -Concentración del gel al 3 %</p>
<p>Variable dependiente: Actividad antiinflamatoria <i>in vivo</i>.</p>	<p>Característica terapéutica de un compuesto para reducir o inhibir la inflamación de una determinada zona afectada.</p>	<p>Estimulación de un edema subplantar, mediante la Carragenina al 1 % en cinco grupos de ratas, a las cuales se le aplicó tópicamente el gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania), con la finalidad de conocer el volumen desplazado a diferentes horas con la ayuda de un Pletismómetro manual.</p>	<p>Medición de la disminución de los volúmenes de las patas con edema.</p>	<p>ml hrs</p>	<p>Numérica</p>	<p>6</p>	<p>. Mediciones del edema en mL .1h .2h .3h .4h .5h 6h</p>

Anexo D. Constancia de la identificación taxonómica



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



CONSTANCIA N°09-2022-HUSA

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Giancarlo Ginetto Delgado Rodríguez y Luis Felipe Kana Mamani bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad María Auxiliadora, para la realización del Proyecto de investigación: "ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DEL GEL A BASE DE EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA RAIZ DE *Krameria lappacea* (RATANIA) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION". La muestra fue enviada al laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsidae
Subclase	Rosidae
Orden	Zygophyllales
Familia	Krameriaceae
Genero	Krameria
Especie	<i>Krameria lappacea</i> (DOMBEY) BURDET & B.B SIMPSON

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Mg. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR

Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado-Teléfono: (054) 237 755 / 993659045

Arequipa, 26 de mayo del 2022

Anexo E. Informes de laboratorio



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MÉTODOS ALTERNATIVOS A LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL CIMAEXAN

INFORME DE ANÁLISIS AYRU N° 120-2022

Emitido en Huaraz, el 29 de Agosto del 2022

Orden de Trabajo	: 104-2022
Número de servicio	: 114-2022-AYRU
Nombre del Solicitante	: Bach. Giancarlo Delgado Rodríguez
Dirección	: Lima
Servicio solicitado	: Elaboración de las 3 formulaciones del gel de <i>Krameria lappacea</i> y estudio experimental en ratas
Producto a evaluar	: Extracto hidroalcohólico de <i>Krameria lappacea</i>
Cantidad de muestra	: 01 unidad
Identificación	: -
Presentación	: Frasco ámbar con capacidad de 500 ml.
Lugar y fecha de recepción	: Laboratorio de Análisis, 26 de julio de 2022
Características de entrega	: Entrega por parte del solicitante
Condiciones de recepción	: En aparente buen estado a temperatura ambiente
Muestra de dirimencia	: No proporcionada por el solicitante
Fecha de inicio de ensayo	: 01 de agosto de 2022
Fecha de término de ensayo	: 29 de agosto de 2022

ENSAYOS

EVALUACIÓN	MÉTODO DE ENSAYO
ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	La actividad antiinflamatoria se realizó mediante el método del edema pedal inducido por carragenina, descrito por primera vez por Winter et al. y posteriormente por Sughisita et al (1981), González et al (2007) y Villena (2012)



Marleny Flor Capcha Siccha
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. 28776

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizado.

Página 1 de 5

PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME

Instituto de Investigación Tradicional y Biotransversal Ayru SAC. Jr. Rafael Del Castillo S/N, Huaraz, Ancash. E-mail: laboratorio@ayru.com

INFORME DE ANÁLISIS AYRU N° 121-2022
Emitido en Huaraz, el 29 de Agosto del 2022

Orden de Trabajo	: 105-2022
Número de servicio	: 115-2022-AYRU
Nombre del Solicitante	: Bach. Giancarlo Delgado Rodríguez
Dirección	: Lima
Servicio solicitado	: Tamizaje fitoquímico y ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (RATANIA)
Producto a evaluar	: Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Krameria lappacea</i>
Identificación	: -----
Presentación	: Frasco ámbar con capacidad de 500 mL
Lugar y fecha de recepción	: Laboratorio de Análisis, 26 de julio de 2022
Características de entrega	: Muestra proporcionada por el solicitante
Condiciones de recepción	: En aparente buen estado a temperatura ambiente
Muestra de dirimencia	: No proporcionada por el solicitante
Fecha de inicio de ensayo	: 01 de agosto de 2022
Fecha de término de ensayo	: 16 de agosto de 2022

ENSAYOS

DETERMINACIONES	EXTRACTO	RESULTADOS (presencia)*
Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico (EH) de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (RATANIA)	EH. de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (RATANIA)	Carbohidratos (+++), compuestos fenólicos (+++), flavonoides (++), taninos (+++), quinonas (+), alcaloides (++), sesquiterpenlactonas (++), saponinas (+++)
Ensayo de solubilidad del del extracto hidroalcohólico (EH) de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (RATANIA)	EH. de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> (RATANIA)	Agua destilada (++), Metanol (+++), Etanol 96 % (++), Etanol 70 % (++), Diclorometano (+++)

*Los resultados son cualitativos y determinan una probabilidad de la presencia de metabolitos en la muestra.

(+++)= Abundante; (++)= Moderado; (+)= Escaso; (-)= Ausencia

(+++)= Muy soluble; (++)= Soluble; (+)= Poco Soluble; (-)= Insoluble



Marieny Flor Capcha Siccha
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. 28776

Los resultados de los ensayos corresponden sólo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizada.

Página 1 de 4

PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC. Jr. Rafael Del Castillo S/N, Huaraz, Ancash. E-mail: laboratorio@ayru.com

ANEXO F. Evidencias fotográficas del trabajo de campo



Figura 3: Recolección de la muestra vegetal



Figura 4: Selección de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)



Figura 5: Extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

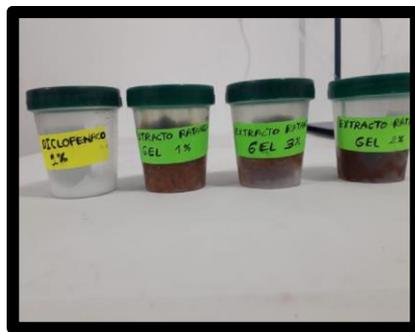


Figura 6: Gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)



Figura 7: Los animales de experimentación en el bioterio AYRU

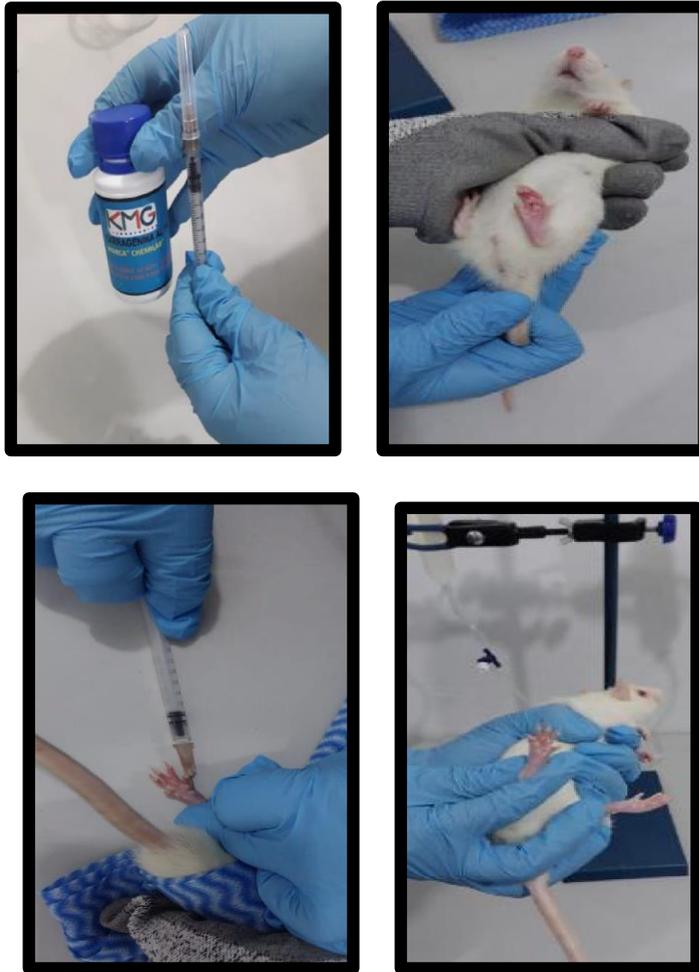


Figura 8: Aplicación de la Carragenina al 1% en la pata del animal de experimentación

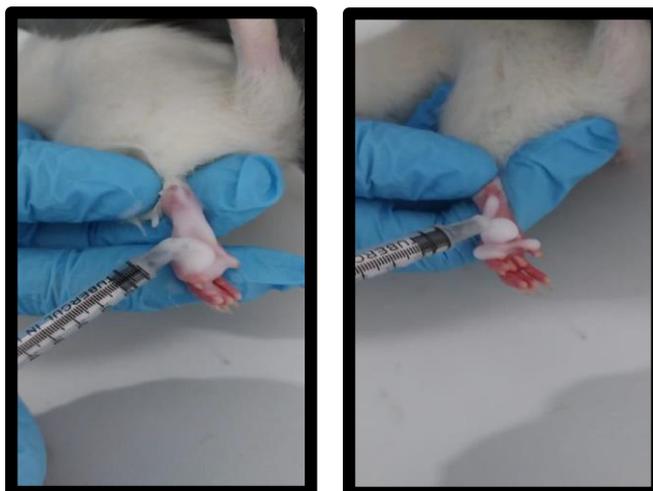


Figura 9: Aplicación del gel diclofenaco al 1%

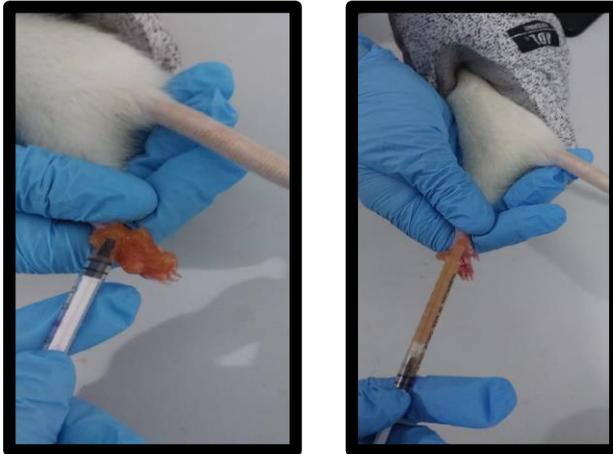


Figura 10: Aplicación del gel a base del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson (Ratania)

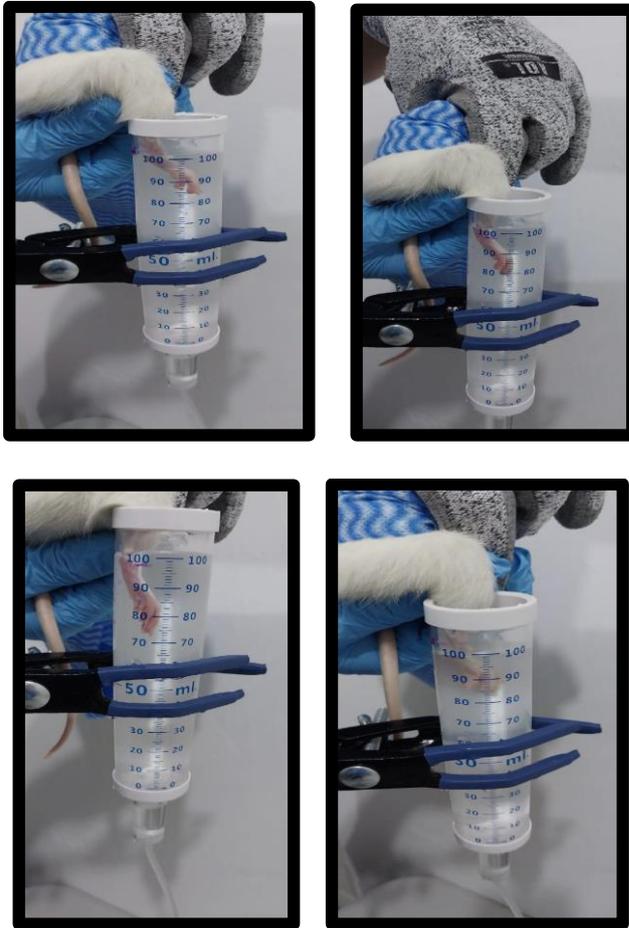


Figura 11: Medición del volumen desplazado con el pletismómetro manual