



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

**“EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UNA CREMA
ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO ETANOLICO AL
70% DE LAS HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* L. EN
Rattus norvegicus hotlzman”**

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

AUTORES:

Bach. CAMPOS FLORES, JANERITH NURYTH

Bach. SANTA CRUZ MONDRAGON, FATIMA MILAGROS

ASESOR:

MSc. CORDOVA SERRANO, GERSON

LIMA-PERÚ

2021

DEDICATORIA

A Dios por brindarme salud y firmeza para lograr mis objetivos. A mis padres Aurora y Ricardo por ser mi motor y motivo, por estar siempre presente con su apoyo incondicional en los momentos más difíciles e importante, es por ello que me orgullece que formen parte de este logro en el camino de mi vida. A mis hermanos Ricardo, Betssy, Galo y Ricardo D. a mi compañero de la vida Rober por apoyarme en esta meta y mi familia por ser mis principales inspiraciones para lograr este propósito. (JANERITH C)

A Dios por darme fortaleza y salud, Iris y Elí mis padres y Tais y Harold mis hermanos y toda mi familia por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles y ser parte de este logro. A Jhordan por ser mi compañero en este camino y apoyarme a no desistir de esta meta. A mi abuela María por ser mi guía y cuidar de mí siempre, por sus palabras de aliento y motivación para no darme por vencida para lograr este propósito. Y finalmente a mi abuelo Isidro por enseñarnos siempre lo importante de ser un buen ser humano y un profesional con mucha ética. (FATIMA S.C.)

Agradecimiento

Este trabajo debe ser reconocido como una labor en conjunto, realizado por nosotras las tesoristas y con la ayuda indispensable del asesor MSc. Gerson Córdova Serrano, el cual fue un guía en todo el proceso de la investigación.

A la Universidad María Auxiliadora, por la oportunidad brindada para continuar con nuestra formación profesional.

Al biólogo Julio Hidalgo que nos guió en el proceso del campo experimental, y a la Universidad Cayetano Heredia por las prestaciones de sus laboratorios para la realización de las pruebas de nuestro estudio.

Y mostrando una gratitud excepcional al Mg. Erick Olivar, por el apoyo y dedicación en el desarrollo estadístico experimental. A los docentes que sin egoísmo compartieron sus conocimientos en aras de una formación óptima que nos permita asumir retos como profesionales competentes. Eterna gratitud a todas las personas que nos ofrecieron una mano sin esperar retribución alguna.

Contenido

I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS	12
2.1. Enfoque y diseño de la investigación	12
2.2. Población, muestra y muestreo	12
2.2.1. Población	12
2.2.2. Muestra	12
2.3. Variables de investigación	13
2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos	14
2.5. Proceso de recolección de datos	14
2.5.1. Obtención del extracto	14
2.5.2. Análisis fitoquímico preliminar	14
2.5.3. Procedimiento experimental	15
2.6. Métodos de análisis estadísticos	22
2.7. Aspectos éticos	22
III. RESULTADOS	23
3.1. Ensayo Fitoquímico Preliminar	23
3.2. Toxicidad Aguda Dermal	23
3.3. Determinación de la toxicidad dérmica aguda de la crema tópica al 1%. Elaborado a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L.	26
3.4. Efecto antiinflamatorio del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L. en base a diferentes concentraciones	30
3.5. Pruebas estadísticas para comparar el efecto antiinflamatorio del extracto de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L. en base a diferentes concentraciones:	32
IV. DISCUSION.....	40
4.1. Discusión de resultados.....	40
4.2. Conclusiones	41

4.3. Recomendaciones	42
V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Signos y síntomas evaluados en animales de experimentación	16
Tabla 2: Evaluación de la Irritación Dérmica Primaria	19
Tabla 3: Categoría de Índice de Irritación Primaria (IIPP) mediante el Test de Draize	20
Tabla 4. Ensayo fitoquímico preliminar del extracto de etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
Tabla 5: Resultados de la toxicidad aguda dermal – mortalidad.....	24
Tabla 6: Parámetros abióticos de valoración clínica en animales de experimentación.....	24
Tabla 7: Control de aparición de signos y síntomas de cada grupo de estudio	26
Tabla 8: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 0.5 % en <i>Rattus norvegicus hotlzman</i>	27
Tabla 9: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 1 % en <i>Rattus norvegicus hotlzman</i>	28
Tabla 10: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 2 % en <i>Rattus norvegicus hotlzman</i>	29
Tabla 11: Diferencia de peso de la pata tratada y la no tratada – por grupos	30
Tabla 12: Efecto antiinflamatorio del extracto <i>Rosmarinus officinalis</i> L. sobre el edema suplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman.....	32
Tabla 13: Grupos y estadísticas necesarias para el ANOVA.....	33
Tabla 14: Análisis de varianza (ANOVA) y su significancia según distintas concentraciones de la crema antiinflamatoria a base de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	33
Tabla 15: Determinación de homogeneidad entre los grupos de experimentación - Prueba de Tukey.....	34

Tabla 16: Cuadro de actividad antiinflamatoria en las distintas concentraciones de las cremas, las inducidas y aplicadas con el fármaco de referencia	35
Tabla 17: T-Student: Medias obtenidas.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Actividad en porcentajes de las muestras de los grupos experimentales	36
Figura 2: Porcentaje de probabilidad del gel diclofenaco, de la crema base de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. a diferentes concentraciones 0.5%, 1%, 2%	38
Figura 3: Gráfica de la actividad del gel diclofenaco y crema a base de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. al 2	39
Figura 4. <i>Rattus norvergicus Holtzman</i>	51
Figura 5. Peso inicial de <i>Rattus norvergicus Holtzman</i>	51
Figura 6. Marca de carragenina inducida a las ratas	51
Figura 7. Inducción de la inflamación inyectando 0.1mL de carragenina al 3%....	51
Figura 8. Visualización de la inflamación en la pata derecha de las ratas	52
Figura 9. Crema de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) al 0.5%	52
Figura 10. Crema de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) al 1%	52
Figura 11. Crema de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) al 2%	52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Operacionalización de variable	47
Anexo B: Validación de instrumentos.....	48
Anexo C: Grupos experimentales.....	49
Anexo D: Certificado de adquisición en el Bioterio de la UPCH	50
Anexo E: Evidencia de trabajo de campo	51

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antiinflamatorio de una crema elaborada a partir del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. en *Rattus norvegicus hotlzman*. **Materiales y métodos:** El estudio es cuasi experimental *in-vivo*: se manipuló una variable independiente (diferentes concentraciones de una crema elaborada a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.) y se procedió a evaluar la variable dependiente (efecto antiinflamatorio) en los animales de la experimentación. Es longitudinal porque se sometió el efecto antiinflamatorio durante un periodo de 15 días. Y cuantitativa porque efectuó mediciones del peso de la pata inflamada de las ratas en el periodo de tiempo establecido. Los datos fueron procesados en el software Minitab 19 y Excel 2016. **Resultados:** Se trabajó con grupos experimentales, a los que se les suministró la crema con distintas concentraciones de romero con 0.5%, 1%, 2%; y que fueron comparadas con el gel diclofenaco. El nivel de actividad de cada concentración fue significativamente distinto de las otras. Se halló una relación directamente proporcional entre las concentraciones de la crema y el nivel de actividad; es decir, al aumentar la concentración, se incrementa el nivel de actividad, y por ende su cercanía a la eficacia del gel diclofenaco. **Conclusión:** La concentración de romero al 2% es la que mejor resultados mostró, lo cual lo califica como el que obtuvo mayor efecto antiinflamatorio, dentro del modelo experimental realizado.

Palabras claves: *Rosmarinus officinalis* L., antiinflamatorio, extracto etanólico.

ABSTRACT

Objective: To determine the anti-inflammatory effect of a cream made from the 70% ethanolic extract of the leaves of *Rosmarinus officinalis* L. in *Rattus norvegicus* hotlzman. **Materials and methods:** The study is quasi-experimental in-vivo: an independent variable was manipulated (different concentrations of a cream made from 70% ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. leaves) and the dependent variable was evaluated (anti-inflammatory effect) in experimental animals. It is longitudinal because the anti-inflammatory effect was submitted for a period of 15 days. And quantitative because it made measurements of the weight of the inflamed leg of the rats in the established period of time. The data were processed in the Minitab 19 and Excel 2016 software. **Results:** We worked with experimental groups, to which the cream was supplied with different concentrations of rosemary with 0.5%, 1%, 2%; and that they were compared with diclofenac gel. The activity level of each concentration was different from the others. A directly proportional relationship was found between the concentrations of the cream and the level of activity; that is, as the concentration increases, the level of activity increases, and therefore its proximity to the efficacy of the diclofenac gel. **Conclusion:** The concentration of rosemary at 2% is the one that showed the best results, which qualifies it as the one that obtained the greatest anti-inflammatory effect within the experimental model carried out.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L., anti-inflammatory, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un mecanismo de defensa del organismo frente a la agresión, constituye una respuesta inespecífica del sistema inmunológico frente a agentes causales de diversa índole, que determinan cambios fisiológicos que desencadenan el incremento del flujo sanguíneo y permeabilidad vascular junto con la liberación de mediadores, etc. Sin embargo, cuando hay pérdida del control homeostático de este proceso de defensa, la inflamación juega un papel perjudicial que contribuye a la aparición y el empeoramiento de las enfermedades. Debido a esto, se han desarrollado una gran variedad de fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, no obstante, el uso prolongado de estos medicamentos puede causar muchos efectos adversos (1).

Por otro lado, el uso de las plantas medicinales se remonta a nuestros antepasados que, con distintas plantas o derivados, las utilizaban para curar o tratar enfermedades (2). En el Perú existen diversas especies vegetales, algunas ya estudiadas y otras sin serlo; en ellas se han encontrado y se siguen encontrando importantes componentes bioactivos de interés farmacológico, motivo por el cual la investigación fitoquímica y etnofarmacológica de la flora del Perú es una actividad continua y de constante crecimiento. El romero es una planta nativa que se encuentra en el centro poblado de Urquillos distrito Huayllabamba, provincia de Urubamba, departamento del Cuzco-Perú. Tiene como nombre científico *Rosmarinus officinalis* L. Es utilizado de manera empírica: en los baños medicinales; como estimulante estomacal; y en la gastronomía como yerba aromática; etc. (3).

Entre los principales compuestos bioactivos del *Rosmarinus officinalis* L. encontramos los flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, es por eso que es importante investigar el efecto antiinflamatorio de los extractos etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. y darle forma farmacéutica (crema) al extracto que exhiba mayor efecto antiinflamatorio, con la finalidad de encontrar una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento de la inflamación (3).

Las cremas son formulas farmacéuticas que pueden ser preparaciones líquidas o semisólidas que contienen principios activos, naturales o químicos, y aditivos necesarios para obtener una emulsión homogénea. Están destinadas a ser aplicadas sobre la piel o mucosa; con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración cutánea, en este trabajo se le agregara el extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. para posteriormente comprobar efecto antiinflamatorio (4).

En diversos trabajos de investigación, nos detallan diversas técnicas para evaluar las propiedades antiinflamatorias del extracto del *Rosmarinus officinalis* L. (romero). Por ejemplo, Rocha et al. (2015), en su artículo describe que su objetivo fue evaluar las propiedades antiinflamatorias del ácido rosmarínico y de un extracto de *Rosmarinus officinalis* L. en la inflamación local con el modelo de edema de pata inducido por carragenina en la rata. Por primera vez se ha identificado el potencial antiinflamatorio del ácido rosmarínico, ya que provoca una reducción sustancial de la inflamación, y especulamos que podría ser útil en la modulación farmacológica de lesiones asociadas a la inflamación (5).

Por otra parte, Beltrán et al. (2017) en su estudio tuvo como objetivo demostrar la utilidad terapéutica potencial de la asociación del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y del extracto etanólico de *R. officinalis* coadministrado con ketorolaco, utilizando la prueba de la formalina en ratas. Finalmente, el análisis isobolográfico demostró que, en ambas combinaciones, podrían ser útiles mezclados con el ketorolaco para el tratamiento del dolor e inflamatorio (6).

Así mismo, Da Rosa et al. (2013) investigaron los efectos antiinflamatorios del aceite de extracto crudo libre obtenido de las hojas del *Rosmarinus officinalis* y sus fracciones en un modelo animal de inflamación. Evaluaron así su uso medicinal para el tratamiento de afecciones inflamatorias. Al final, pudieron comprobar una importante actividad antiinflamatoria al observar que el extracto del *Rosmarinus officinalis* y fracciones, logró inhibir los leucocitos y disminuir la exudación de las actividades de la mieloperoxidasa y la adenosina-deaminasa, el nitrito/nitrato, los niveles de interleucina 17A e interleucina 10 y la expresión del ARNm (7).

Kuncho (2019), tuvo como objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio del gel tópico y para esto usó el método del edema auricular inducido por el aceite de crotón en

tres concentraciones de extracto de *Rosmarinus officinalis* y las comparó con el diclofenaco gel al 1%. Obtuvo como resultado que en la concentración al 1% del extracto, presenta mejor efecto antiinflamatorio y ausencia de toxicidad dérmica aguda (3).

Posteriormente, Daga (2019) evaluó el efecto antiinflamatorio de un gel elaborado a base de *Rosmarinus officinalis* y de *Urtica dioica*. Indujo a la inflamación con 0.1ml de solución de carragenina al 1% en la zona suplantar de la pata posterior izquierda, aplicando posteriormente por vía tópica el gel preparado con *Rosmarinus officinalis* y *Urtica dioica*. Luego, el volumen de la inflamación se midió en milímetros a través de pletismómetro digital. Al finalizar, los resultados mostraron que, una capacidad al 2% del gel obtuvo el porcentaje de 99.31% en inhibición antiinflamatoria en relación al gel de diclofenaco (8).

Aguay (2012), determinó la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de *Zingiber officinalis*, *Thymus vulgaris* L. y *Rosmarinus officinalis*, aplicando diferentes dosis a las *Rattus norvegicus*. Se les inyectó 0,5% de carragenina en la región plantar para provocar la inflamación. Fueron sometidas a 5 tratamientos y finalmente se midió los volúmenes de inflamación. Se concluyó que la formulación 2 mostró una efectividad antiinflamatoria superior al naproxeno sódico durante las doce horas del ensayo (9).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) gran parte de los tratamientos tradicionales implican extractos de plantas con componentes bioactivos. El uso de las plantas medicinales se remonta a nuestros antepasados que, con distintas plantas o derivados, las utilizaban para curar o tratar enfermedades (2).

Es por eso que este estudio tiene justificación social, en la que aportará grandes beneficios terapéuticos con esta alternativa, de una crema antiinflamatoria a base de extractos naturales. En referencia a la justificación práctica, todo el proceso de nuestro estudio tiene como finalidad dar nuevos aportes para el conocimiento de nuestra población. Aporte como lo es, el conocimiento científico, por ello que se emprendió este trabajo, en beneficio a la salud (8).

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto antiinflamatorio de una crema elaborada a partir del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. en *Rattus norvegicus hotlzman*.

Finalmente, la hipótesis planteada manifiesta que la crema elaborada a partir del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. tendrá un efecto antiinflamatorio en *Rattus norvegicus holtzman*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación

El estudio es cuasi experimental *in-vivo*: se manipuló una variable independiente (diferentes concentraciones de una crema elaborada a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.) y se procedió a evaluar la variable dependiente (efecto antiinflamatorio) en los animales de experimentación. Es longitudinal porque se sometió el efecto antiinflamatorio durante un periodo de 15 días. Y cuantitativa porque efectuó mediciones del peso de la pata inflamada de las ratas en el periodo de tiempo establecido.

2.2. Población, muestra y muestreo

2.2.1. Población

- a) **Vegetal:** *Rosmarinus officinalis* L. del centro poblado de Urquillos-Cusco.
- b) **Animal:** Ratas albinas machos cepa *Holtzman* del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2.2.2. Muestra

Muestra botánica

Se recolectó la muestra vegetal de “Romero” (*Rosmarinus officinalis* L.) en la Provincia de Urubamba, departamento del Cusco y se cosechó la planta entera.

Además, se recolectó dos ejemplares enteros para la certificación taxonómica en el museo de historia natural de la UNMSM de Lima – Perú.

Muestra animal

Se adquirió en total 42 ratas de la cepa *Holtzman* de 250-300 g de peso.

2.3. Variables de investigación

En el presente estudio se presenta dos variables implicadas:

Variable independiente: Crema a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

Definición conceptual: Las cremas son formas farmacéuticas semisólidas que contienen uno o más fármacos disueltos o dispersos en una base adecuada, con consistencia relativamente líquida, formulados como emulsión de agua en aceite o aceite en agua (12).

Definición operacional: La crema será evaluada y aplicada en distintas concentraciones: 0.5%; 1%; 2%. Con estas concentraciones se buscará determinar las propiedades antiinflamatorias.

Variable dependiente: Inflamación suplantada inducida por carragenina en ratas Holtzman.

Definición conceptual: La inflamación es un proceso fisiológico, defensivo natural del organismo, ante agresiones del medio. Causa dolor, calor, edema, etc. Su función principal es permitir que el organismo se adapte a diferentes circunstancias. El proceso inflamatorio se puede dividir en cinco etapas: la liberación de mediadores, el efecto de los mediadores, la llegada de moléculas, células inmunes al foco inflamatorio, la regulación del proceso inflamatorio, y finalmente la reparación del tejido que puede ser parcial o total (13).

Definición operacional: El proceso inflamatorio ocasionado por la carragenina se debe a la liberación dentro de la primera hora de histamina, serotonina, que actúan principalmente como mediadores. Posteriormente, dentro de dos horas y media intervienen las quininas como la bradiquinina; y finalmente las prostaglandinas fundamentalmente PGE₁, PGE₂ y PGF₃.

2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos

La técnica que se utilizó para la recolección de datos proviene del *Manual de técnicas de investigación del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED)*, con la cual se obtuvo una cantidad importante de información de forma óptima y eficaz (14).

Los datos fueron recopilados en fichas elaborados por los investigadores y validados por un juicio de expertos.

Los instrumentos elaborados fueron:

- a.- Para la determinación del análisis fitoquímico preliminar.
- b.- Para la actividad antiinflamatoria.

2.5. Proceso de recolección de datos

2.5.1. Obtención del extracto

Se recolectó la planta en estudio, el romero (*Rosmarinus officinalis* L.) en el centro poblado de Urquillos, distrito de Huayllabamba, provincia de Urubamba, departamento del Cusco a una altitud de 2.980 msnm. Se cosechó la planta entera y posteriormente se realizó el secado de las hojas. Una vez que la muestra se encontró seca, se procedió a la molienda. Se tuvo en cuenta el medio y las circunstancias del transporte para proteger la planta.

En el laboratorio de la Universidad María Auxiliadora se dividió la maceración en 2 frascos. Luego de los 15 días de la maceración se realizó la filtración, la cual se repitió hasta obtener la mayor cantidad del extracto. Para la evaporación se utilizó un rota vapor para no desnaturalizar a los posibles metabolitos que posee la planta.

2.5.2. Análisis fitoquímico preliminar

El procedimiento experimental se dividió en dos partes. La primera fue el tratamiento de la muestra *Rosmarinus officinalis* L. La segunda fue los análisis correspondientes, a los cuales llamaremos la parte fitoquímico.

- Limpieza y lavado de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

- Secado de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.
- Extracción etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.
- Tamizaje Fitoquímico

Se le realizó un estudio fitoquímico preliminar de la planta, en el que se evaluó: la determinación de la humedad; el tamizaje fitoquímico; el perfil de solubilidad; y el rendimiento de la extracción. La elaboración de la crema se hizo con la formulación descrita en la Tabla 4.

2.5.3. Procedimiento experimental.

2.5.3.1. Evaluación de la Toxicidad Aguda Dermal - (DL₅₀ Dermal):

Se evaluó la toxicidad aguda dermal de la muestra, la cual fue administrada tópicamente en el lomo del animal, que estuvo previamente rasurado. 24 horas antes del ensayo. Se realizó dicho proceso a tres grupos de dos ratas cada uno y un grupo de control (agua destilada).

La prueba incluyó tres tratamientos de la muestra con las dosis de 200, 1000 y 2000 mg/Kg de peso corporal. La mortalidad fue observada diariamente hasta los 14 días.

El procedimiento se ha hecho de acuerdo con la guía *Directrices de la OECD para las pruebas de productos químicos* N° 402 (15).

2.5.3.1.1. Clasificación para evaluar la toxicidad dérmica aguda en animales de experimentación

Las descripciones de los valores de toxicidad dérmica se basan en los criterios aprobados para la clasificación de sustancias peligrosas.

- **Categoría I (altamente tóxico en contacto a la piel):** cuando pequeñas cantidades (<_50mg/Kg) puede provocar daños graves.
- **Categoría II (muy tóxico en el contacto con la piel):** cuando pequeñas cantidades (>50mg/Kg y <_200mg/Kg) puedes provocar daños graves o la muerte.

- **Categoría III (tóxico en contacto de la piel):** cuando las cantidades son razonables (>200mg/Kg y <1000mg/Kg) pueden provocar la muerte o graves daños.
- **Categoría IV (nocivo en contacto de la piel):** cuando cantidades grandes (>1000mg/Kg y <2000mg/Kg) pueden provocar la muerte o graves daños.
- **Categoría V (no clasificada):** cuando cantidades grandes (>2000mg/Kg) pueden provocar la muerte o graves daños

Fuente: Manual Técnico Andino. Julio 2002

2.5.3.1.2. Parámetros abióticos y valoración clínica en animales de experimentación

Luego de la administración de la dosis se hizo un seguimiento clínico a los animales de 14 días para observar si hay mortalidad y si existen conductas anormales (como alteración en la actividad motriz y postración) o presencia de signos de toxicidad (como convulsión, piloerección, disnea, diarrea, entre otros). (Ver Tabla 3).

Tabla 1: Signos y síntomas evaluados en animales de experimentación

1. Comportamiento	- Agresividad - Convulsiones - Movimiento en circulo - Letárgica
2. Sistema Respiratorio	- Dificultad respiratoria: Disnea, Jadeo
3. Sistema Digestivo	- Constipación - Diarrea
4. Sistema Cardiovascular	- Cianosis - Sangrado por orificios naturales
5. Sistema Urogenital	- Orina turbia
6. Piel	- Mucosas ictéricas

	- Piloerección - Reflejo pupilar a la luz: Midriasis / Miosis
7. Sistema Muscular	- Cojera - Inmovilidad - Temblor
8. Compromiso Sistémico	- Coma - Deshidratación - Alteración ingesta de alimentos - Postración - Rigidez abdominal - Alteración de la temperatura corporal: hipertermia/hipotermia

Fuente: Animals in Research: The importance of Animals in the Science of Toxicology. The society of toxicology (2006) (18).

2.5.3.2. Ensayo de Irritación Dermal

Técnica y Especificación:

El ensayo sigue el procedimiento establecidas en el siguiente document: ISO 10993-10: 2010 Part 10: Test for Irritation and Skin Sensitization (19).

Animales:

Para el ensayo se usaron ratas albinas (*Rattus norvegicus*) machos sanos, de la cepa Holtzman de 6 – 8 semanas de edad con un peso promedio de 200 – 250 g.

Dada la procedencia de los animales, en el presente ensayo, se procedió al proceso de cuarentena de cinco días. En tal virtud, los animales fueron colocados en el lugar destinado para tal fin. La alimentación se realizó con alimento balanceado y agua *ad libitum*.

El cuidado de los animales usados durante la prueba cumple con las directrices aceptadas en las normas o guías internacionales para el cuidado y manejo de animales de experimentación.

El control de las condiciones ambientales y las técnicas adecuadas del cuidado animal son necesarios para dar resultados significativos.

El total de animales usados fue de tres. Uno en la prueba inicial y dos en la prueba confirmatoria.

Preparación de los animales:

24 horas antes del inicio de la prueba, se depila el dorso de cada animal usando una máquina rasuradora. Los animales están sanos y con la piel intacta, sin daño alguno.

Alojamiento y condiciones ambientales:

Las ratas se encuentran en jaulas individuales. El ensayo se desarrolló en el ambiente de experimentación de conejos del Área de Modelos Biológicos y Toxicológicos del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

La temperatura del ambiente está en el rango de 20 – 25°C, la humedad relativa entre 30 – 70%. La secuencia del fotoperiodo es 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Variables:

Las variables registradas durante el ensayo correspondieron a: los efectos irritantes producidos por la aplicación única por la vía dérmica; y a la observación hasta los 14 días de los animales ensayados.

Procedimiento:

A tres ratas albinas (uno para la prueba inicial y dos para la prueba confirmatoria, cepa Holtzman, machos entre 200 a 250 g de peso, se les rasuró el dorso 24 horas antes de iniciada la prueba y se colocó la muestra con un apósito no oclusivo de 2.5 x 2.5 cm directamente sobre la piel, siendo luego cubierta con una venda semi-oclusiva.

Las observaciones de las aplicaciones de la muestra fueron secuenciales a los 3 minutos, 1 hora y 4 horas. Se registraron los aspectos de cada zona de aplicación y las respuestas de las zonas tratadas y evaluadas a las 24, 48 y 72 horas, procediendo a determinar el grado de reacción en la piel de los conejos (prueba inicial y prueba confirmatoria) (Ver Tabla 6 y 7).

El período de observación es hasta 14 días después de remover los parches con la muestra ensayada. Se observa la reversibilidad de los efectos producidos.

2.5.3.3. Método de determinación de la irritación primaria (SPI) e índice de irritación primaria (IIP)

La escala usada para evaluar la irritación dérmica aguda se presenta en la Tabla 1 para cada uno de los animales. El periodo de observación de los valores de eritema y de edema es de 72 horas, los cuales se suman, y a dicho resultado, se le divide entre el Índice de Irritación Primaria (IIP).

Este índice se determina calculando el promedio de los valores de irritación para todos los animales y se usa para obtener el valor de IIP de la sustancia a ensayar. Basado en las observaciones que se realizaron durante 72 horas, se le asigna a la sustancia a ensayar, un valor de acuerdo a la escala presentada en la Tabla 2.

Tabla 2: Evaluación de la Irritación Dérmica Primaria

Formación de eritema	Valor
Ausencia de eritema	0
Eritema muy ligero (casi permisible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado y severo	3
Eritema muy severo (ro remolacha) lesiones profundas)	4
Máximo posible	4

Formación de edema	
Ausencia de edema	0
Edema muy ligero (casi impermisible)	1
Edema ligero (bordes del área bien definido por un levantamiento definitivo)	2
Edema moderado (levantamiento aproximado 1mm)	3
Edema severo (levantamiento aproximado de 1mm y extendiéndose más allá del área de exposición)	4
Máximo posible	4

Fuente: Draize J, et all (16).

Tabla 3: Categoría de Índice de Irritación Primaria (IIPP)

Tasa Descriptiva	Índice de irritación primaria (IIP)	Criterio de aceptación
<i>Insignificante</i>	0,00 - 0,49	Se aprueba (no irritante)
<i>ligeramente irritante</i>	0,50 - 1,99	
<i>moderada irritación</i>	2,00 - 4,99	se rechaza (irritante)
<i>severa irritación</i>	5,00 -8,00	

Fuente: Draize J, et all (16).

2.5.3.4. Estudio de la actividad antiinflamatoria

Las cremas que se aplicaron sobre la superficie del edema plantar inducido en ratas, se elaboraron con tres concentraciones diferentes: 0.5%, 1%, 2%.

Se utilizó 30 ratas de la raza *Holtzman* de 250-300 g adquiridos en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Para la ejecución del ensayo los animales de experimentación fueron aclimatados durante 14 días con acceso a agua y alimento ad libitum con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Como ya se mencionó, el método se realizó según lo citado en el Manual del CYTED (14).

La muestra fue dosificada en tres concentraciones ya mencionadas, y el fármaco a usar en el grupo control positivo es el diclofenaco sódico al 1%, en presentación gel.

Se realizó la inducción de la inflamación inyectando 0.1 mL de carragenina al 3% en la pata derecha de todos los animales, a excepción del control negativo. Luego las muestras fueron aplicadas a los animales de experimentación por vía tópica en la zona de la pata derecha, previamente depilada.

Después de dos horas se sacrificaron los animales por dislocación cervical, con mucho cuidado de no dañar las patas tratadas e inflamadas. Estas luego fueron cortadas y pesadas para evaluar las diferencias de peso entre la pata derecha generada con inflamación y la pata izquierda como control para su posterior valoración.

La actividad antiinflamatoria se calculó con la siguiente fórmula:

$$Actividad (\%) = \frac{(\Delta C - \Delta T)}{\Delta C} * 100$$

Dónde:

ΔC = Diferencia de peso de las patas de las ratas del grupo control.

ΔT = Diferencia de peso de las patas de las ratas de las muestras ensayadas.

El porcentaje de inflamación de la pata tratada con respecto a la pata sin tratar se calculó de la siguiente manera:

$$Inflamación (\%) = \frac{T}{ST} * 100 - 100$$

Dónde:

ΔT = Promedio de peso de las patas de las ratas tratadas,

ΔT = Promedio de peso de las patas de las ratas control negativo.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

Los datos han sido presentados en medidas de tendencia y analizados mediante la estadística inferencial, para así establecer las relaciones entre las variables. Para este proceso se empleó el software Minitab 19 y Excel 2016.

2.7. Aspectos éticos

La presente investigación se desarrolló siguiendo los estándares previstos en el manual *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón*, elaborado por el Instituto Nacional de Salud (INS) y el Ministerio de Salud (MINS) (17). Dicho manual plantea tres tipos de actitudes que debe demostrar todo profesional de la salud:

- Respeto: Debido a que los animales son seres vivos y que padecen sufrimiento e incluso pierden la vida en los experimentos. Es necesario tratarlos como la buena conducta lo dicta.
- Afecto: Tenemos que considerarlos coparticipes del misterio de la vida.
- Gratitud: Valorar y estimar a dichos animales al ser parte indispensable de nuestro estudio.

Añadimos que todo proceso experimental que involucre el uso de animales se debe tomar en cuenta los aspectos bioéticos de autonomía, no maleficencia, beneficencia y justicia durante la ejecución del proyecto de investigación.

III. RESULTADOS

3.1. Ensayo Fitoquímico Preliminar

Tabla 4. Ensayo fotoquímico preliminar del extracto de etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVOS	RESULTADOS
Alcalides	Dragendorff Wagner	+++ +++
Compuestos Fenólicos	Cloruro Ferrico	+++
Flavonoides	Shinoda PewS	+++
Taninos	Cloruro Ferrico	++
Azucares Reductores Libres	Fehling A	+++
Azucares Conjugados a Glucósidos	Fehling B	++
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Saponinas	Triterpenos	++

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 4 se observan los resultados del análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. por medio de reacciones de coloración y precipitación. Se pudo identificar una gran presencia de alcalides, compuestos fenólicos, flavonoides, y azucares reductores libres. Una presencia regular de taninos, azucares conjugados a glucósidos, y saponinas. Y una presencia muy baja de aminoácidos.

3.2. Toxicidad Aguda Dermal

El extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. no produjeron mortalidad en las dosis ensayadas por vía dermal durante el tiempo de evaluación. La DL₅₀ por vía dermal de la muestra es mayor de 2000 mg/Kg de peso corporal. (Ver Tabla)

Tabla 5: Resultados de la toxicidad aguda dermal – mortalidad

Dosis (mg/Kg de peso corporal)	Mortalidad Muertos/Total
200	0/3
control	0/3
1000	0/3
2000	0/3

Fuente: Elaboración propia.

El extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. no produjeron mortalidad en las dosis ensayadas por vía dermal durante el tiempo de evaluación. La DL₅₀ por vía dermal de la muestra es mayor de 2000 mg/Kg de peso corporal (Ver Tabla 6).

Tabla 6: Parámetros abióticos de valoración clínica en animales de experimentación

Observac.	Hora - Día																	
	N° Animales	1h	2h	4h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

NO PRESENTA:	0																							
PRESENTA:	M:	MUERTE	S:	SANGRADO POR ORIFICIOS NATURALES	DH:	DESHIDRATACION	A:	AGRESIVIDAD	AN/PL:	ANURIA/ POLIURIA	AA:	ALTERACIÓN INGESTA DE ALIMENTOS	C:	CONVULSIONES	OT:	ORINA TURBIA	PT:	POSTRACION	MC:		MI:	MUCOSAS ICTERICIA	RA:	RIGIDEZ ABDOMINAL
	L:	MOVIMIENTO EN CIRCULO	PE:	PILOERECCIÓN	HT/HT:	HIPERTERMIA /HIPOTERMIA	D:	LETÁRGICA	MD/MI:				J:	JADEO	CJ:	REFLEJO PUPILAR: MIDRIASIS /MIOSIS			CT:	CONSTIPACION	I:	COJERA		
	DR:	DISNEA	T:	INMOVILIDAD									CI:	DIARREA	CM:	COMA								

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 6 se muestran los periodos de observación para los 14 días que duró el ensayo. En base a dichas observaciones encontramos que los animales de experimentación no presentaron conductas anormales tales como: alteración en la actividad motriz, postración, depresión, irritabilidad, confusión, jadeo. Tampoco se vieron signos de toxicidad como: convulsión, piloerección, debilidad, ataxia, disnea, diarrea, y defecación.

3.3. Determinación de la toxicidad dérmica aguda de la crema tópica al 1%. Elaborado a base del extracto etanolico al 70% de las hojas de *Rosmarinus Officinalis* L.

Tabla 7: Control de aparición de signos y síntomas de cada grupo de estudio

GRUPOS	DOSIS	30 min	01 h	02 h	04 h	1° día	2° día	3° día	4° día	5° día	6° día	7° día	8° día	9° día	10° día	11° día	12° día	13° día	14° día		
G1	200 mg/kg	R1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		R2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		R3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2	Control	R1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		R2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		R3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3	1000 mg/kg	R1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		R2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		R3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G4	2000 mg/kg	R1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		R2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		R3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda

-	Ausencia de signos y síntomas como: temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, sueño, como muerte, crecimiento de pelaje y comportamiento de los animales.
---	---

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 7 se muestra los resultados de las observaciones realizadas durante los 14 días del ensayo para cada uno de los grupos estudiados. No se reportaron signos ni síntomas (convulsiones, temblores, salivación, diarrea, letargia, sueño ni muerte) ni ausencia de crecimiento de pelaje en ninguna de las dosis aplicadas.

Tabla 8: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 0.5 % en *Rattus norvegicus hotlzman*

Efecto	Tiempo de observación	Rata 1 muestra	Rata 2 muestra	Rata 3 muestra	Irritación primaria (IIP)
					SPI
Eritema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	0	0	0	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Edema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	0	0	0	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Índice de Irritación Primaria (IIP)					0.0

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los datos experimentales realizados en el estudio.

La muestra no produjo eritema en la piel de las tres ratas, en los 14 días de observación. No se produjo edema. No se observaron signos ni síntomas adversos durante la prueba (Ver Tabla 8).

Tabla 9: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 1 % en *Rattus norvegicus hotlzman*

Efecto	Tiempo de observación	Rata 1 muestra	Rata 2 muestra	Rata 3 muestra	Irritación primaria (IIP)
					SPI
Eritema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	1	1	1	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Edema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	0	0	0	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Índice de Irritación Primaria (IIP)					0.0

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los datos experimentales realizados en el estudio.

La muestra produjo eritema muy leve a la hora de observación, en la piel de las tres ratas, desapareciendo el efecto a partir de las 4 horas hasta los 14 días de observación. No se produjo edema. No se observaron signos ni síntomas adversos durante la prueba (Ver Tabla 9).

Tabla 10: Ensayo de irritación dérmica aguda de la crema tópica al 2 % en *Rattus norvegicus hotlzman*

Efecto	Tiempo de observación	Rata 1 muestra	Rata 2 muestra	Rata 3 muestra	Irritación primaria (IIP)
					SPI
Eritema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	1	1	1	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Edema	3 minutos	0	0	0	0.0
	1 hora	0	0	0	0.0
	4 horas	0	0	0	0.0
	24 horas	0	0	0	0.0
	48 horas	0	0	0	0.0
	72 horas	0	0	0	0.0
Índice de Irritación Primaria (IIP)					0.0

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los datos experimentales realizados en el estudio.

La muestra produjo eritema muy leve a la hora de observación, en la piel de las tres ratas, desapareciendo el efecto a partir de las 4 horas hasta los 14 días de observación. No se produjo edema. No se observaron signos ni síntomas adversos durante la prueba (Ver Tabla 10).

3.4. Efecto antiinflamatorio del extracto de *Rosmarinus Officinalis* L. en base a diferentes concentraciones

Tabla 11: Diferencia de peso de la pata tratada y la no tratada – por grupos

GRUPO N°1	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	1.71	1.69	0.02
2	1.68	1.63	0.05
3	1.62	1.59	0.03
4	1.74	1.72	0.02
5	1.75	1.71	0.04
Promedio	1.70	1.67	0.03
Desviación estándar	0.05	0.06	0.01
GRUPO N°2	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	2.28	1.69	0.59
2	2.39	1.63	0.76
3	2.30	1.59	0.71
4	2.33	1.72	0.61
5	2.35	1.71	0.64
Promedio	2.33	1.67	0.66
Desviación estándar	0.04	0.06	0.07
GRUPO N°3	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	1.7	1.68	0.02
2	1.69	1.66	0.03
3	1.67	1.65	0.02
4	1.66	1.64	0.02
5	1.71	1.7	0.01
Promedio	1.69	1.67	0.02
Desviación estándar	0.02	0.02	0.01
GRUPO N°4	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	1.98	1.65	0.33
2	1.93	1.68	0.25

3	1.91	1.63	0.28
4	1.96	1.68	0.28
5	1.97	1.67	0.3
Promedio	1.95	1.66	0.29
Desviación estándar	0.03	0.02	0.03
GRUPO N°5	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	1.75	1.62	0.13
2	1.79	1.61	0.18
3	1.78	1.63	0.15
4	1.77	1.62	0.15
5	1.78	1.61	0.17
Promedio	1.77	1.62	0.16
Desviación estándar	0.02	0.01	0.02
GRUPO N°6	Peso de la pata no tratada (mg)	Peso de la pata tratada (mg)	Diferencia de peso (mg)
1	1.7	1.62	0.08
2	1.71	1.62	0.09
3	1.71	1.6	0.11
4	1.69	1.63	0.06
5	1.68	1.64	0.04
Promedio	1.70	1.62	0.08
Desviación estándar	0.01	0.01	0.03

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 11 se muestran los valores en mg de los pesos antes y después de la administración de los tratamientos clasificados en los siguientes grupos: Grupo N°1 es el grupo control negativo; Grupo N°2 es el inducido con la carragenina, pero sin tratamiento; Grupo N°3 es el que recibió el tratamiento del medicamento patrón de diclofenaco gel al 1%; Grupo N°4 se le aplicó la crema al 0.5%; Grupo N°5 se le aplicó la crema al 1%; y finalmente el Grupo N°6 se le aplicó la crema al 2%.

Tabla 12: Efecto antiinflamatorio del extracto *Rosmarinus officinalis* L. sobre el edema suplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman

	Inducido sin tratamiento (o gel placebo)	Gel diclofenaco	Romero 0.5%	Romero 1%	Romero 2%
	0.59	0.02	0.33	0.13	0.08
	0.76	0.03	0.25	0.18	0.09
	0.71	0.02	0.28	0.15	0.11
	0.61	0.02	0.28	0.15	0.06
	0.64	0.01	0.3	0.17	0.04
prom	0.66	0.02	0.29	0.16	0.08
s	0.07	0.01	0.03	0.02	0.03
s2	0.00507	5E-05	0.00087	0.00038	0.00073

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 12 se expone el efecto antiinflamatorio del extracto *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) sobre el edema suplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman. Se ha separado los tres distintos grados de concentración de la crema de romero (0.5%, 1%, 2%), y también se ha visto el inducido sin tratamiento y gel diclofenaco. Se ha ordenado los valores hallados en la Tabla 11, que es la diferencia del nivel de peso de la pata, de las ratas tratadas y no tratadas. Con dichos valores se ha procedido a hallar el promedio, la desviación estándar y la varianza.

3.5. Pruebas estadísticas para comparar el efecto antiinflamatorio del extracto de *Rosmarinus Officinalis* L. en base a diferentes concentraciones:

Se procederá al Análisis de varianza (ANOVA) para la evaluación del efecto antiinflamatorio de una crema a base del extracto etanólico 70% de *Rosmarinus officinalis* L. en *Ratus norvegicus* hotlzman.

Tabla 13: Grupos y estadísticas necesarias para el ANOVA

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Inducido sin tratamiento	5	3.31	0.662	0.00507
Diclofenaco gel	5	0.1	0.02	5E-05
Romero 0.5%	5	1.44	0.288	0.00087
Romero 1%	5	0.78	0.156	0.00038
Romero 2%	5	0.38	0.076	0.00073

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 13 se encuentran los 5 grupos de control. En la columna *Cuenta*, se encuentra el número de ratas con el que se experimentó en determinado grupo. La columna *Suma* es el resultado de la sumatoria de los valores expuestos en la Tabla 12, valores que provienen de la diferencia de peso entre la pata tratada y no tratada de las ratas *Holtzman* que participaron en el experimento (Ver Tabla 11). La columna *Promedio* es el resultado de la división entre los valores de la columna *Suma* y *Cuenta*. Con los valores anteriores se ha hallado la varianza correspondiente para cada grupo experimental.

Tabla 14: Análisis de varianza (ANOVA) y su significancia según distintas concentraciones de la crema antiinflamatoria a base de *Rosmarinus officinalis* L.

ANÁLISIS DE
VARIANZA

s²

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F_{exp}</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.313696	4	0.328424	231.284507	1.94225E-16	2.866081402
Dentro de los grupos	0.0284	20	0.00142			
Total	1.342096	24				

Fuente: Elaboración propia.

Hipótesis:

H0 ($\text{sig} \geq \alpha=0.05$): No hay diferencias entre las medias de los diferentes grupos experimentales.

H1 ($\text{sig} < \alpha=0.05$): Al menos una de las medias es significativamente distinta a las demás medias de los grupos experimentales.

|
En la Tabla 14 observamos que obtuvimos un valor-p de 1.94225E-16, el cual es menor que $p=0.05$. Por ende, rechazaríamos la hipótesis nula (H0) y aceptaríamos la hipótesis alternativa (H1). Esto nos llevaría a concluir que existe diferencias significativas en el efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, diclofenaco gel, e inducido sin tratamiento o gel placebo; reflejado en la diferencia del nivel de peso de la pata de las ratas tratadas y no tratadas.

Tabla 15: Determinación de homogeneidad entre los grupos de experimentación - Prueba de Tukey

HSD	7.13
Mul	423
Mse	0.00142
n	5

	Control Negativo	0,5%	1%	2%	Diclofenaco
Sin tratamiento		0.374	0.506	0.586	0.642
0,5%			4.22	4.844	4.99962
1%				0.624	0.77962
2%					0.15562
diclofenaco					

Fuente: Elaboración propia.

Hipótesis:

H0: Existe efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, sobre el edema subplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman en comparación con el gel diclofenaco y gel placebo (o inducido sin tratamiento).

H1: No existe efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, sobre el edema subplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman en comparación con el gel diclofenaco y gel placebo (o inducido sin tratamiento).

En la Tabla 15 se ha desarrollado la prueba de Tukey. Para poder aceptar o rechazar nuestras hipótesis debemos comparar los valores de la Tabla 14 con el HSD. Al no encontrar un valor que supere (el más alto fue 4.99962) al HSD (7.13) concluimos que no se rechaza la hipótesis nula; cuestión que si sucede con la hipótesis alternativa. Esto nos dice que si existe efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, sobre el edema subplantar inducido por carragenina en ratas Holtzman en comparación con el gel diclofenaco y gel placebo (o inducido sin tratamiento).

Tabla 16: Cuadro de actividad antiinflamatoria en las distintas concentraciones de las cremas, las inducidas y aplicadas con el fármaco de referencia

Actividad Antiinflamatoria			
	Grupo	Dosis (mg/Kg)	Actividad (%)
	Control Negativo	0	0.00
	No tratado	Inducido s/t	0.00
	Formula 0.5%	Formula 0.5%	56.50
	Formula 1%	Formula 1%	76.44
	Formula 2%	Formula 2%	88.52

	Gel diclofenaco	Gel diclofenaco	96.98
--	-----------------	-----------------	-------

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 16 se observa que el mayor porcentaje de actividad se da en la crema *Rosmarinus Officinalis* L. (romero) al 1% y 2%; con una actividad de 76.44% y 88.52%, respectivamente. La crema o formula al 2% es la que más se acerca al gel diclofenaco, mostrando resultados sumamente alentadores sobre las propiedades antiinflamatorias del romero.

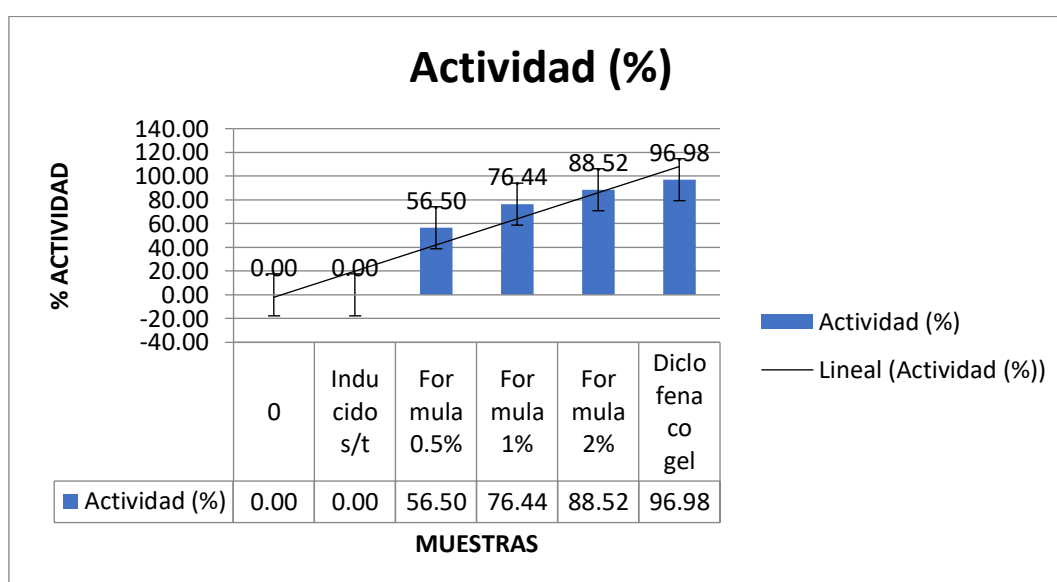


Figura 1: Actividad en porcentajes de las muestras de los grupos experimentales

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 1, mediante una gráfica se expone señalado en la Tabla 16. Nos permite visualizar que al aumentar el porcentaje de la formula -desde el 0.5% al 2%- va incrementándose el efecto antiinflamatorio que posee el romero.

Tabla 17: T-Student: Medias obtenidas

Gel diclofenaco	Romero 0.5%	Romero 1%	Romero 2%
0.02	0.33	0.13	0.08
0.03	0.25	0.18	0.09
0.02	0.28	0.15	0.11
0.02	0.28	0.15	0.06
0.01	0.3	0.17	0.04

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 17 se presenta las medias obtenidas del diclofenaco, y de los tres tipos de concentraciones de romero en crema: 0.5%, 1% y 2%. Estos resultados también fueron expuestos en la Tabla 12.

Se utilizará la prueba t-student porque la muestra con la que se trabaja es pequeña. Y como se sabe, es recomendable el uso de dicho test cuando la cantidad de la muestra es generalmente menor a 30, como lo es en el presente trabajo, al haber 5 muestras por cada grupo experimental.

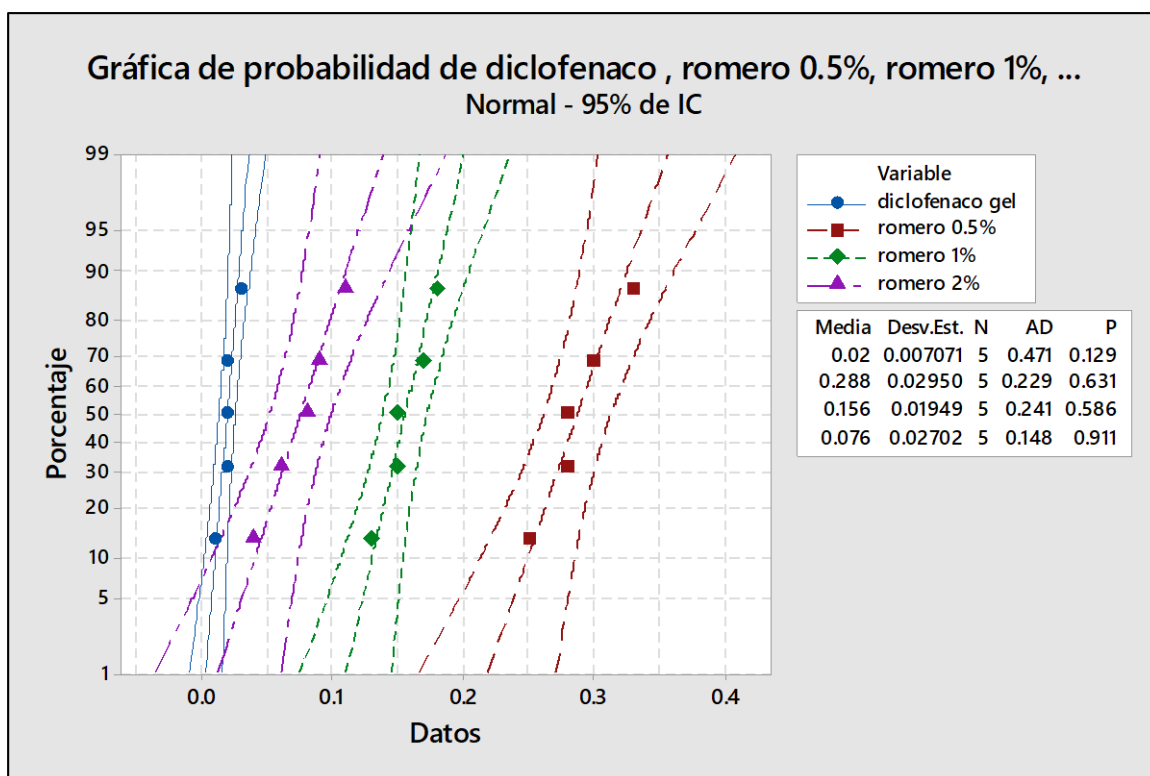


Figura 2: Porcentaje de probabilidad del gel diclofenaco, de la crema base de *Rosmarinus officinalis* L. a diferentes concentraciones 0.5%, 1%, 2%

Fuente: Elaboración propia.

Hipótesis:

H0 (valor-p $\leq \alpha=0.05$): No existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de un grupo experimental respecto de las medias de los otros grupos experimentales.

H1 (valor-p $> \alpha=0.05$): Existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de un grupo experimental con al menos una de las medias de los otros grupos experimentales.

En la Figura 2 se muestra la gráfica de probabilidades con un intervalo de confianza de 95%. Los valores de la media, desviación estándar, cantidad de datos (N), coeficiente Anderson-Darling (AD), y valor-p (P); se encuentran en sus columnas ordenadas de arriba hacia abajo, empezando por el gel diclofenaco y terminando en el romero 2%.

Aplicaremos el método del valor-p, para ello el valor-p debemos compararlo con el nivel de significancia ($\alpha=0.5$). Lo cual nos da para el caso del gel diclofenaco: $0.129 > 0.05$. Hemos escogido dicho grupo experimental porque viene a ser el de menor valor del total los grupos experimentales. Y siendo el menor valor, supera al nivel de significancia; con lo cual deducimos que los otros grupos también lo superaran.

Lo expuesto nos lleva a decir que se rechaza la hipótesis nula (H0); y que no se rechaza la hipótesis alternativa (H1). Por lo tanto, existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de un grupo experimental con al menos una de las medias de los otros grupos experimentales.

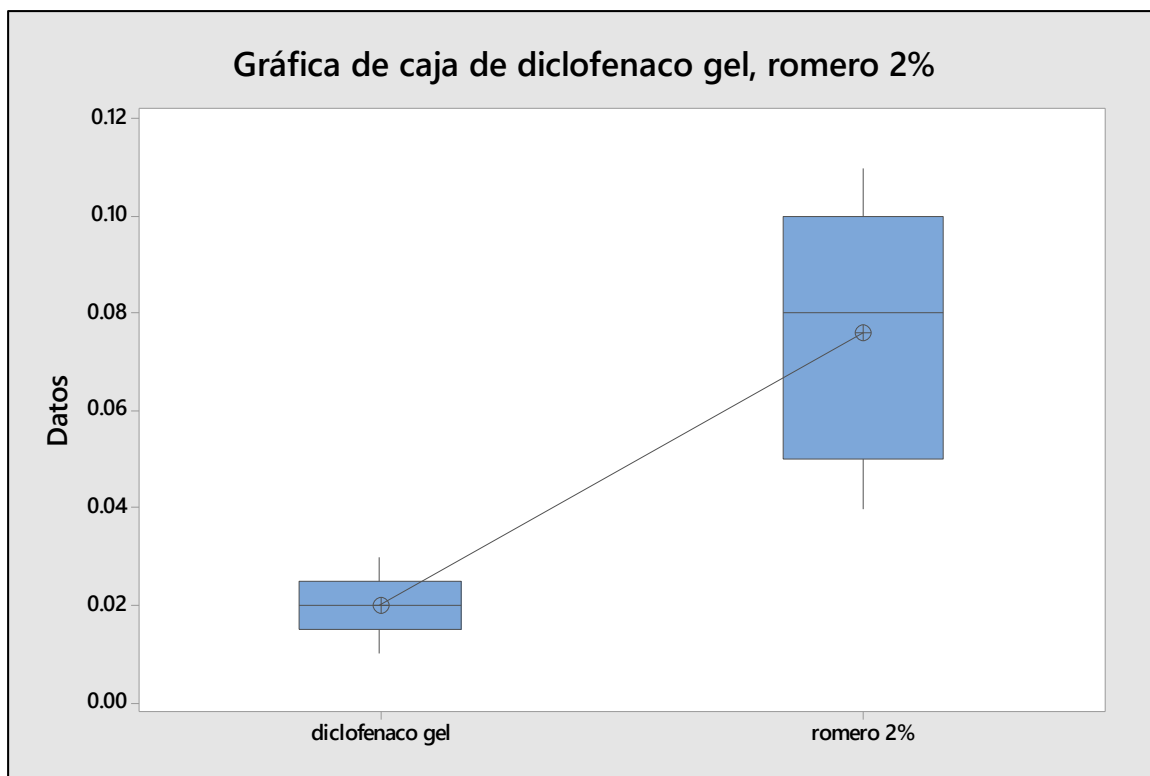


Figura 3: Gráfica de la actividad del gel diclofenaco y crema a base de Rosmarinus officinalis L. al 2%

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 3, la gráfica de caja nos permitirá hacer observaciones importantes, como comparar el comportamiento de estas dos distribuciones con las características que comparten ambos.

Podemos visualizar que el valor mínimo para el gel diclofenaco es 0.01 y el máximo es 0.03; para el romero al 2% es 0.04 y 0.11. La mediana es de 0.02 para el gel diclofenaco y de 0.08 para el romero al 2%. Esto nos lleva a decir que el romero al 2% presenta una mayor mediana que el gel diclofenaco; indicándonos que posiblemente es el más estable de las dos cremas. La dispersión es fundamental, y la gráfica nos permite ver que la dispersión es menor en el caso del gel diclofenaco; y que la mayor es del romero al 2%. Esto se observa por el ancho de cada caja.

IV. DISCUSION

4.1. Discusión de resultados

La investigación presente tuvo el objetivo de evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico al 70% de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. en *Rattus norvegicus* Holtzman. Se consideró los efectos de los compuestos bioactivos del romero, los cuales son: flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos. Esto permitió relacionar los compuestos bioactivos del romero, con las propiedades necesarias para contrarrestar el aumento del flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular; que vienen a ser los efectos que se producen después de una inflamación en alguna parte del organismo.

De tal manera, se trabajó con un grupo de 30 ratas (*Rattus norvegicus* Holtzman). A 25 ratas se les realizó una inducción de la inflamación, inyectándoles 0.1mL de carragenina al 3% en la pata derecha de todos los animales; la excepción fueron las 5 ratas del control negativo. Se dividieron en los siguientes grupos experimentales: Grupo N°1 es el grupo control negativo; Grupo N°2 es el inducido con la carragenina, pero sin tratamiento; Grupo N°3 es el que recibió el tratamiento del medicamento patrón de diclofenaco gel al 1%; Grupo N°4 se le aplicó la crema al 0.5%; Grupo N°5 se le aplicó la crema al 1%; y finalmente el Grupo N°6 se le aplicó la crema al 2%. La aplicación del tratamiento no mostró conductas fuera de lo normal en los animales. Por otra parte, se realizó un ensayo fitoquímico preliminar, en el que se identificó una gran presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, y azúcares reductores libres (ver Tabla 4).

Los resultados han mostrado que se reduce la inflamación con las cremas al 0.5%, 1% y 2%. Habiendo un mayor efecto, cuanto mayor es la concentración de la crema; por ende, la crema al 2% es la que mostró los mejores valores, acercándose más al efecto del gel diclofenaco (ver Tabla 15 y 16; Figura 1). Se debe decir que diversos estudios buscaron comprobar las propiedades antiinflamatorias del *Rosmarinus officinalis* L. (romero) acompañado con otro producto (6) (7) (8) (9). Esto nos llevó a considerar que el romero tiene un potencial significativo a la hora de ser usado como antiinflamante; pero a la vez a tomar con sumo cuidado los resultados de los trabajos citados, puesto que la evaluación que hicieron no fue solo al romero. Los resultados de dichos trabajos coincidían al señalar que era útil para sanar las lesiones asociadas con la inflamación.

Rocha et al. (2015) es uno de los primeros en evaluar las propiedades antiinflamatorias del *Rosmarinus officinalis* L. sin mezclarlo con otro producto. Y también observa que luego de la aplicación se da una reducción de la inflamación (5). Nuestro estudio hace lo mismo: no considera otro producto en la elaboración de la crema. Crema que será evaluada en los distintos grupos experimentales en diferentes concentraciones. Confirmando así los resultados positivos que tiene el romero al momento de reducir las inflamaciones.

En el estudio presente hallamos que la crema al 2% tuvo un porcentaje de 88.52% de actividad. Valor que contrasta con el obtenido por Aguay (2012), en el que el gel al 2% que elaboró tuvo un 99.31%. De forma indispensable se debe decir que el gel elaborado por Aguay fue producto de la mezcla de tres extractos *Zingiber officinalis*, *Thymus vulgaris* L. y *Rosmarinus officinalis*. Esto nos advierte que miremos con cautela los resultados discrepantes entre ambos estudios (3).

Kuncho (2019) comparó tres concentraciones distintas de extracto de romero con el gel diclofenaco al 1%. Y obtuvo como resultado que, dicha concentración presenta el mejor efecto antiinflamatorio (3). Por nuestra parte, la concentración al 2% fue que mejor resultado nos dio; siendo la que más se aproximó a las propiedades antiinflamatorias del gel diclofenaco.

4.2. Conclusiones

1. No se presentó irritación dérmica ni conductas anormales en los 14 días de observación a las que fueron sometidas las ratas Holtzman.
2. Existió diferencias significativas en el efecto antiinflamatorio en el efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, diclofenaco gel, e inducido sin tratamiento o gel placebo. Esto se mostró en el peso de las patas de las ratas tratadas y no tratadas.
3. Si existe efecto antiinflamatorio de la crema de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) al 0.5%, 1%, 2%, sobre el edema subplantar inducido por

carragenina en ratas Holtzman en comparación con el gel diclofenaco y gel placebo (o inducido sin tratamiento).

4. Existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de un grupo experimental con al menos una de las medias de los otros grupos experimentales. Lo cual revela que el valor promedio en un grupo experimental suele ser diferente al de otro.
5. A medida que aumenta la concentración de la crema elaborada a base de romero, se incrementa el nivel de actividad. Por ello, podemos decir que la formula al 2% es la que mejor resultados antiinflamatorios trajo y que es la que más se acerca a las propiedades del gel diclofenaco.

4.3. Recomendaciones

1. Se recomienda continuar con sucesivos trabajos que sigan indagando en las actividades antiinflamatorias del *Rosmarinus officinalis* L.
2. Seguir analizando al romero solo o mezclado con otros productos; y así evaluar así en que caso da mejores resultados. Y si se da el caso de la mezcla, cuál sería el otro producto que vuelva aún más potente sus propiedades antiinflamatorias del romero.
3. Divulgar las propiedades antiinflamatorias que presenta el romero desde el ejercicio profesional de la medicina.
4. Las universidades sigan generando estudios de esta índole, y en especial la casa de estudios Universidad María Auxiliadora (UMA).

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lajo R. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos y gel del rizoma de *Cúrcuma longa linn* (palillo) en ratas sometidas a inflamación suplantada con carragenina, Repositorio de tesis de la Universidad Católica De Santa María [internet] 2018 [citado el 21 de octubre]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/09/915220/evaluacion-del-efecto-antiinflamatorio-de-los-extractos-y-gel-d_YyRxaUY.pdf
2. Oliveira M. Velázquez D. Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales, Revista de ciencia y tecnología de América, [internet] 2005 [citado el 21 de octubre]; 453-459. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1373833>
3. Kuncho M. Elaboración y evaluación del efecto antiinflamatorio del gel tópico formulado a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus officinalis* y determinación de la toxicidad dérmica aguda. Repositorio de tesis de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco [Internet]. 2018 [citado 23 de Julio de 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/3338/253T20180073.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. Yambay P. Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones. Repositorio de tesis de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. [Internet]. 2013 [citado 23 de Julio de 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2473/1/56T00343.pdf>
5. Rocha J, Eduardo-Figueira M, Barateiro A, Fernandes A, Brites D, Bronze R, et al. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. Basic Clin Pharmacol Toxicol [Internet]. 2015 [citado 23 de Julio de 2020];116(5):398-413. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25287116>

6. Beltrán-Villalobos, Karla Lyzet et al. Synergistic antinociceptive interaction of *Syzygium aromaticum* or *Rosmarinus officinalis* coadministered with ketorolac in rats. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. Vol. 94 (2017): 858-864. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.166116(5): 398-413 [Internet]. 2017 [citado 23 de Julio de 2020]. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28802239/>
7. Da Rosa JS, Facchin BM, Bastos J, et al. Systemic administration of *Rosmarinus officinalis* attenuates the inflammatory response induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Planta Med*. 2013; 79(17): 1605-1614. doi:10.1055/s-0033-1351018413 [Internet]. 2013 [citado 23 de Julio de 2020]. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24288274/>
8. Daga J. Efecto antiinflamatorio de un gel elaborado a base de *Rosmarinus officinalis* (romero), *Urtica dioica* (ortiga) en *rattus* variedad albinus. Repositorio de tesis de la Universidad Católica Los Ángeles Chimbote [Internet]. 2019 [citado 23 de Julio de 2019]. Disponible en:
http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11623/ANTIINFLAMATORIO_GEL_DAGA_SOLANO_JUAN_CARLOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
9. Aguay M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de *Zingiber officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* mediante el test de edema inducido en *Rattus norvegicus*. Repositorio de tesis de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo [Internet]. 2012 [citado 23 de abril de 2019]. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2003/1/56T00311.pdf>
10. Campos J, Santa Cruz F. Formulación y control de calidad de una crema elaborada a partir del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Repositorio de la Universidad María Auxiliadora [Internet] diciembre del 2019 [citado el 23 de julio del 2020]. Disponible en:
<http://repositorio.uma.edu.pe/handle/UMA/241>
11. Suxo P. Elaboración de una formula farmacéutica de uso tópico antiinflamatorio y analgésico en base a un extracto etanólico de *Baccharis Latifolia* (Chillka). Repositorio de la Universidad Mayor de San Andrés

- [Internet] 2014 [citado el 23 de julio del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/18134/M-274.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Collado J, et al. Elaboración de una crema cicatrizante, utilizando como principio activo miel *Apis mellifera*, realizada en el laboratorio de tecnología farmacéutica, departamento de química, pabellón 11, recinto Rubén Darío, Unan Managua, abril 2017- noviembre 2018. Repositorio de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua [Internet]. 2018 [citado el 23 de julio del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/10729/1/99433.pdf>
 13. Farfan S, et al. Evaluación de la actividad analgésica y antiinflamatoria de una crema elaborada a base de aceite esencial de *Schinus molle* (Molle) en animales de experimentación. Repositorio de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco [Internet]. 2019 [citado el 23 de julio del 2020]. Disponible en: http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4513/253T2019_0520_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 14. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Búsqueda de principios activos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación. 1995, p. 81.
 15. OECD/OCDE. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Guía para el ensayo de productos químicos. 9 octubre 2017, p.1-8.
 16. Draize et al. Methodos for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. 1994. Science research.
 17. MINSA & INS. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Lima. 2008 [citado el 29 de julio del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/117/CNPB-0002.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 18. The society of toxicology. Animals in Research: The importance of Animals in the Science of Toxicology. 2006 [citado el 30 de julio del 2020]. Disponible en: https://www.toxicology.org/pubs/docs/air/AIR_Final.pdf

19. ISO 10993-10: 2010 Part 10: Test for Irritation and Skin Sensitization. 2006
[citado el 29 de julio del 2020].

ANEXOS

Anexo A: Operacionalización de variable

Operacionalización de variables					
Variables independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Dimenciones	Indicadores	Escala
Crema a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Según definición que le otorga la USP, las cremas son formas farmacéuticas semisólidas que contienen uno o más fármacos disueltos o dispersos en una base adecuada, con consistencia relativamente líquida formulados como emulsión de agua en aceite o aceite en agua.	Las cremas son preparados semisólidos de uso tópico que contienen principios activos o aditivos necesarios en su composición, están compuestas por dos fases una fase lipófila e hidrófila y finalmente se adicionará el extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. en distintas concentraciones 0.50%, 1%, 2%; la cual posteriormente se evaluará su propiedad antiinflamatoria.	Concentración de la crema a base de el extracto etanolico de <i>rosmarinus officinalis</i> L.	concentración al 0.5% concentración al 1% concentración al 2%	Númerica
Variables dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Dimenciones	Indicadores	Escala
Inflamación suplantar inducida por Carragenina en ratas Holtzman.	La inflamación es un proceso fisiológico, defensivo natural del organismo ante agresiones del medio, manifestando el dolor, calor, edema, etc. como signos, su función principal es permitir que el organismo se adapte a diferentes circunstancias. El proceso inflamatorio se puede dividir en cinco etapas; la liberación de mediadores, el efecto de los mediadores, la llegada de moléculas, células inmunes al foco inflamatorio, la regulación del proceso inflamatorio finalmente la reparación del tejido esta puede ser parcial o total.	El proceso inflamatorio ocasionado por la Carragenina se debe a la liberación dentro de la primera hora de histamina, serotonina que actúan principalmente como mediadores, posteriormente dentro de dos horas y media intervienen las quininas como la bradiquinina y finalmente las prostaglandinas fundamentalmente PGE1, PGE2 y PGF2.	Diferencia del peso de las patas con edema y con muestra.	mg	Númerica

Anexo B: Validación de instrumentos

Insumos para la formulación de la crema de *Rosmarinus officinalis* L. con diferentes concentraciones 0,5% 1% 2%

		Nombre Comercial	Nombre INCI	C 1(g)	C 2(g)	C 3(g)
Principio activo	1.	Extracto de romero	Extracto de romero	0,50	1,00	2,00
Fase oleosa	1.	cera lanett	cetearyl alc y sodium cetearyl sulfato	18,0	18,0	18,0
	2.	cutina	Glyceryl stearate SE	14,0	14,0	14,0
	3.	Miristato de isopropilo	Isopropyl Myristate	6,66	6,66	6,66
Fase acuosa	1.	Metil parabeno	Methyl paraben	0,20	0,20	0,20
	2.	Lauril sulfato de sodio	Sodium laury sulfate	3,40	3,40	3,40
	3.	Propilenglicol	Propylene Glycol	3,40	3,40	3,40
	4.	Glicerina liquida	Glycerol	3,40	3,40	3,40
	5.	Agua	Water	50,94	50,94	50,94
			100	100	100	

Leyenda: C1(g) Concentración 1 en gramos, C2(g): concentración 2 en gramos, C3(g): Concentración 3 en gramo

Anexo C: Grupos experimentales

Grupos de experimentación		Peso de la pata no tratada (mg)		Peso de la pata tratada (mg)	Formación de el edema (mg)	Promedio del edema (mg)
GRUPO N°1 CONTROL	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					
GRUPO N°2 Carragenina	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					
GRUPO N°3 patrón diclofenaco sódico	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					
GRUPO N°4 crema a base de extracto etanólico c/0.5%	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					
GRUPO N°5 crema a base de extracto etanólico c/1%	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					
GRUPO N°6 crema a base de extracto etanólico c/2%	R1					
	R2					
	R3					
	R4					
	R5					

Anexo D: Certificado de adquisición en el Bioterio de la UPCH



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

JEFATURA DE BIOTERIO - DUICT UPCH

CERTIFICADO

El Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia **CERTIFICA** que los productos biológicos que se describen a continuación:

50 ratas de la cepa Holtzman, machos de 8 semanas de edad, con un rango de peso vivo de 200 a 240 gr.

Cuentan con un buen estado nutricional, sanitario y clínico; importante para este tipo de productos biológicos que son utilizados con diversos fines en el área biomédica.

Se expide el presente certificado al Laboratorio de Control de Calidad de Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Lima, 16 de octubre del 2020

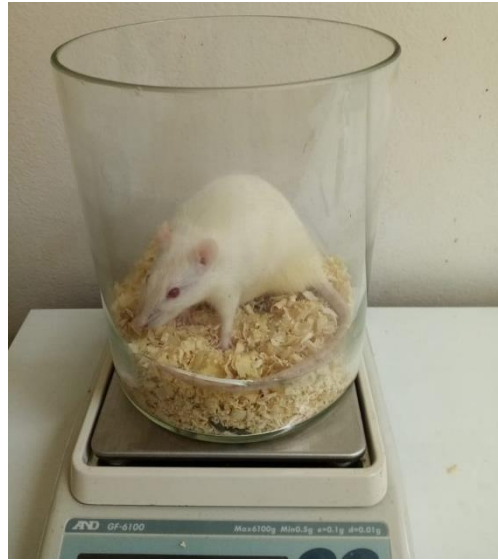


José Fernando Nuñez Vicaña
Médico Veterinario Zootecnista UPCH
Jefe del Bioterio UPCH
Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología DUICT
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Anexo E: Evidencia de trabajo de campo



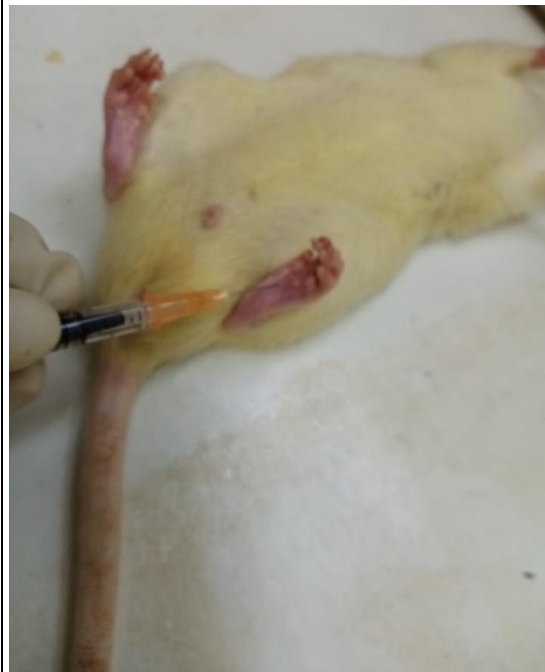
**Figura 4. *Rattus norvegicus*
Holtzman**



**Figura 5. Peso inicial de *Rattus*
norvegicus Holtzman**



**Figura 6. Marca de carragenina
inducida a las ratas**



**Figura 7. Inducción de la
inflamación inyectando 0.1mL de
carragenina al 3%**



Figura 8. Visualización de la inflamación en la pata derecha de las ratas



Figura 9. Crema de *Rosmarinus officinalis* L (romero) al 0.5%



Figura 10. Crema de *Rosmarinus officinalis* L (romero) al 1%

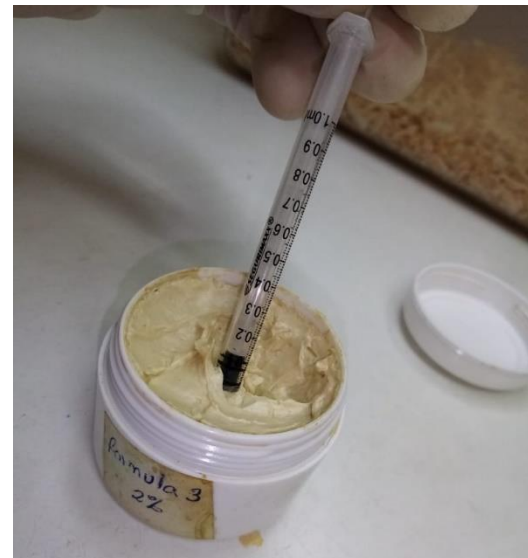


Figura 11. Crema de *Rosmarinus officinalis* L (romero) al 2%