



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

**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA CREMA ELABORADA CON EL  
EXTRACTO ETANOLICO DE *Olea europaea L.* (Olivo) EN *Rattus  
norvegicus var. albinus* CON EDEMA PLANTAR INDUCIDO**

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

**AUTORES**

**Bach. CENTY RODRÍGUEZ, MARÍA FERNANDA**

<https://orcid.org/0000-0002-6960-1635>

**Bach. RONDON MEDINA, KATHERINE JOSSELIN**

<https://orcid.org/0000-0002-4701-4544>

**ASESOR**

**Dra. MOYANO LEGUA, ROSA DANITZA**

<https://orcid.org/0000-0002-8662-9971>

**Lima, Perú**

**2022**

## **DEDICATORIA**

A mis padres Fernando y Gloria ya que son el pilar fundamental y apoyo en mi formación académica, a mi hermanita Verónica que es el ejemplo para luchar por mis metas, a mi abuelita Andrea que desde el Cielo me guía por el buen camino, pues sin ellos no lo hubiese logrado.

CENTY RODRÍGUEZ, MARÍA FERNANDA

A Mis padres Helberth y Luzgarda por el amor, paciencia, esfuerzo incondicional, quienes han velado por mi bienestar y mi triunfo personal; a mis hermanos por ser un ejemplo de no desfallecer, ni rendirme a conseguir mis metas trazadas

RONDON MEDINA, KATHERINE JOSSELIN

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios porque nos permites sonreír ante cada logro, cuando caemos estas tú y nos levantas, corregimos nuestros errores y mejoramos como ser humano.

A nuestra asesora Dra. Rosa Danitza Moyano Legua, porque fue nuestra mano derecha durante la realización de esta tesis, el camino no fue fácil, pero con su apoyo y conocimiento esto no se miró tan difícil.

A mi supervisora y amiga Q.F. Milagros Abril pues me dio todas las facilidades para realizar esta tesis, las palabras sabias en que todo el esfuerzo que estaba haciendo tendría una gran recompensa.

Al Sr. Madrid, al Q.F. Cesar Navarro y Dra. Marilú Jaramillo por compartir sus conocimientos y apoyarnos en la parte práctica de esta tesis.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	7
<b>ABSTRACT</b>	8
<b>INTRODUCCIÓN</b>	9
<b>II. MATERIALES Y METODO</b>	12
<b>II.1. Enfoque y diseño de la investigación</b>	12
<b>II.2. Población, muestra y muestreo</b>	12
<b>II.3. Variabilidad de la investigación</b>	13
<b>II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos</b>	14
<b>II.5. Plan metodológico para la recolección de datos</b>	14
<b>II. 6. Procedimiento del análisis estadístico</b>	20
<b>II.7. Aspectos éticos</b>	21
<b>V. RESULTADOS</b>	21
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	30
<b>IV.1. DISCUSION DE RESULTADOS</b>	30
<b>IV.2. CONCLUSIONES</b>	30
<b>IV.3. RECOMENDACIONES</b>	31
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	32
<b>ANEXOS</b>	35
<b>ANEXOS C: Matriz de consistencia</b>	37
<b>ANEXO D: Operacionalizacion de las variables</b>	38
<b>DOCUMENTOS OBTENIDOS PARA DESARROLLO DE LA INVESTIGACION</b>	39
<b>ANEXO E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo</b>	45

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Distribución de los grupos experimentales	15
TABLA 2: Formulación de la crema elaborada con el extracto etanólico de hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) al 2%	18
TABLA 3: Formulación de la crema elaborada con el extracto etanólico de hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) al 4%	19
TABLA 4: DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD	24
TABLA 5: DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	25
TABLA 6: CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA DE <i>Olea europaea</i> L. (Olivo).	26
TABLA 7: Ensayo de estabilidad en tiempo real al 2%	26
TABLA 8: Ensayo de estabilidad en tiempo real al 4%	27
TABLA 9: Evaluación del efecto antiinflamatorio	28
TABLA 10: Evaluación del efecto antiinflamatorio en porcentaje	29
TABLA 11: Evaluación del promedio del efecto antiinflamatorio en porcentaje	30
TABLA 12: Estadística según ANOVA	31
TABLA 13: Estadística según TUKEY	32

## ÍNDICE DE FIGURA

FIGURA 1: Técnica de la tinción de Gram.	21
FIGURA 2: Ensayo de Solubilidad.	48
FIGURA 3: Determinación de metabolitos secundarios.	48
FIGURA 4: Cremas de <i>Olea europaea</i> (olivo) y crema base utilizadas para la evaluación antiinflamatoria.	49
FIGURA 5: Pesado de <i>Rattus norvegicus</i> var. Albinus.	49
FIGURA 6: Inducción del edema plantar con carragenina.	50
FIGURA 7: Medición del edema plantar a las <i>Rattus norvegicus</i> var. Albinus.	50

## ÍNDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO N° 1: Evaluación del promedio del efecto antiinflamatorio en porcentaje	30
---	----

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con edema plantar inducido.

**Materiales y método:** Se utilizó 250gr de hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) para la maceración, se identificaron metabolitos secundarios, se elaboró la crema al 2% y 4% a quien se le realizó control de calidad, la inflamación se indujo con carragenina en el plantar de las 25 *Rattus norvegicus* var. *Albinus* los cuales se dividieron en 5 grupos, se midió con vernier la pata del animal a diferentes horas posterior a la inflamación y se comparó con Betametasona en crema.

**Resultados:** La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) al 4% tiene mejor actividad antiinflamatoria que la del 2%.

### Conclusiones:

- La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con edema plantar inducido tiene la actividad antiinflamatoria.
- Los metabolitos identificados en el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) fueron alcaloides, flavonoides, antraquinonas, taninos y compuestos fenólicos.
- La crema elaborada con el extracto etanólico cumple con las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42).
- La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) al 4% tuvo mejor actividad antiinflamatoria que la crema elaborada con el extracto etanólico al 2% en *Rattus norvegicus* var. *Albinus* con edema plantar inducido.

**Palabras claves:** Crema de *Olea europaea* L. (Olivo), y efecto antiinflamatorio.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the anti-inflammatory activity of the cream made with the ethanolic extract of the leaves of *Olea europaea* L. (Olive) in *Rattus norvegicus* var. *albinus* with induced plantar edema.

**Materials and method:** 250g of *Olea europaea* L. (Olive) leaves were used for maceration, secondary metabolites were identified, the cream was made at 2% and 4%, and quality control was performed, inflammation was induced with carrageenan in the plantar of the 25 *Rattus norvegicus* var. *Albinus* which were divided into 5 groups, the animal's paw was measured with vernier at different hours after the inflammation and compared with Betamethasone cream.

**Results:** The cream made with the ethanolic extract of the leaves of *Olea europaea* L. (Olive) at 4% has better anti-inflammatory activity than that of 2%.

### Conclusions:

- The cream made with the ethanolic extract of the leaves of *Olea europaea* L. (Olive) in *Rattus norvegicus* var. *albinus* with induced plantar edema has anti-inflammatory activity.
- The metabolites identified in the ethanolic extract of the leaves of *Olea europaea* L. (Olive) were alkaloids, flavonoids, anthraquinones, tannins and phenolic compounds.
- The cream made with the ethanolic extract complies with the specifications of the United States Pharmacopeia (USP 42).
- The cream elaborated with the ethanolic extract of the leaves of *Olea europaea* L. (Olive) at 4% had better anti-inflammatory activity than the cream elaborated with the ethanolic extract at 2% in *Rattus norvegicus* var. *Albinus* with induced plantar edema.

**Keywords:** Cream of *Olea europaea* L. (Olive), and anti-inflammatory effect.



## INTRODUCCIÓN

La inflamación es la actitud natural del organismo dada por el sistema inmunológico como contestación a una afección, que podría ser causada por agentes químicos, físicos, microorganismos, traumatismos, etcétera. John Hunter, cirujano y anatomista escocés anuncio que, la inflamación no es una enfermedad, sino, una respuesta no específica que tiene efecto favorable en el organismo.

Cabe resaltar que la inflamación es la primera respuesta del organismo frente a cualquier mal exógeno o endógeno, la Organización Mundial de la Salud indica que muchas patologías como la gonartrosis, artrosis, artritis, esclerosis, entre otras, son muy dolorosas ya que el 90% de pacientes con estas patologías puede alcanzar altos niveles de inflamación que pueden llegar a impedir la movilidad del área afectada, la Organización Mundial de la Salud estima que el 80% de los pobladores en todo el mundo confía en la medicina alternativa para solucionar sus principales inconvenientes de salud. <sup>(1)</sup>

Debemos mencionar que, en nuestro país el seguro social de salud (ESSALUD) cuenta con más de 83 centros de salud, que brindan este servicio, siendo bien aceptada por lo menos el 76 % de los pacientes. <sup>(2)</sup>

Y considerando que un óptimo porcentaje poblacional conoce la utilización de la fitoterapia como recurso medicinal debido a más de 80.000 especies de plantas medicinales, siendo uno de los países con mayor biodiversidad, debido a los diferentes tipos de climas y de suelos. Y según el ministerio de agricultura (MINAGRI) el 45% de estas, proceden de la Amazonia, 39% de los Andes y 16% de la costa del país. A nivel nacional se reporta que existen 17,226 hectáreas sembradas con *Olea europaea L.* (Olivo). Tradicionalmente se utilizan las hojas de esta especie en infusión, le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidante, hepatoprotectora, diurética y depurativa debido a sus principales metabolitos (polifenoles, alcaloides, flavonoides, secoiridoides, etc.) <sup>(3)</sup>

Debemos destacar que los metabolitos secundarios presentan propiedades biológicas, ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones. La cantidad de estos para su síntesis depende de la etapa del desarrollo de la planta y se pueden dividir en nitrogenados, fenólicos y terpenos, según antecedentes, los “principales metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria en las hojas de *Olea europaea L.* son los fenoles, taninos, alcaloides, flavonoides entre otros” según revisión bibliográfica, por lo que se

elaboró una forma farmacéutica para demostrar dicho efecto antiinflamatorio. Se debe considerar que los antiinflamatorios son un grupo de fármacos empleados por su acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria, y utilizados en farmacología junto a los antiinflamatorios esteroideos o corticoides, como los principales agentes para tratar inflamación. <sup>(4)</sup>

“El *Olea europaea* L., El olivo, es la única especie de la familia *Oleaceae* con frutos comestibles, es una de las plantas cultivadas más antiguas, cuyos orígenes como cultivo son de unos 4000-3000 años antes de cristo en la zona de Palestina. Durante siglos su principal zona de cultivo ha sido el área mediterránea, pero en los últimos años se extiende a zonas nuevas como México, Sudamérica y Australia.” <sup>(5)</sup>

A nivel internacional, se encontraron las siguientes investigaciones:

Martínez R, Cárdenas F, Campa A, Toledo A, (2019). Realizaron un análisis del desecho orgánico solido de la región de H. Caborca, Sonora, México, para identificar que compuestos están presentes y cuales son susceptibles de explotación comercial, según el resultado se halló que el extracto sólido de la oliva es predominante los tonos café, verdes y textura pastosa, siendo las muestras de orujo, moderadamente más oscuras, se determinó compuestos fenólicos a los se le atribuye actividad antioxidante, se identificó en las hojas de olivo hidroxitirosol y tirosol los cuales sirven para tratar cáncer y la arterosclerosis. <sup>(6)</sup>

Talhaoui, N. (2016) realizó la evaluación analítica, agronómica y biológica de compuestos fenólicos en productos y subproductos de *Olea europaea*, utilizó muestras de hojas de olivo de las variedades Arbequina, Picual, Sikitita, Arbosana, Changlot, Real y Koroneiki, llevó a cabo la extracción con una solución de metanol/agua (80/20 v/v) y determinó los siguientes compuestos fenólicos en mayor cantidad en cada variedad de *Olea europaea*, la extracción se hizo por HPLC encontrando secoiridooides en (Changlot), flavonoides (Arbosana), fenoles simples y oleosidos (Koroneiki) y ácidos oleanólicos (Arbosana). Los metabolitos identificados tienen actividad antiinflamatoria, antitumoral, antiviral y antimicrobiana. <sup>(7)</sup>

Ilieva G. (2019). Reflejó los últimos estudios sobre las propiedades farmacológicas y las patentes ya registradas de los principios activos del olivo. Según su investigación llegó a la conclusión que el olivo tiene actividad antibacteriana, antioxidantes, antiinflamatorio, anticancerígena, cardioprotectora, antidiabética, neuroprotector y antiparasitaria. Los principios activos patentados son hidroxitirosol, polifenoles y oleuropeína que serían los

responsables de las actividades farmacológicas ya mencionadas. <sup>(8)</sup>

A pesar de haber realizado una búsqueda minuciosa, no se hallaron investigaciones públicas propias de *Olea europaea L.* (Olivo) a nivel nacional, por lo que se consideró la metodología a realizar de otras plantas medicinales, para el desarrollo de la investigación, las cuales tenemos:

Paredes E. y Polar S. (2016). Determinaron el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de *Olea europaea L.* (Olivo), lo cual observaron que el diclofenaco mostro una disminución del 42,7% de la inflamación, seguido por el gel de *Olea europaea L.* (Olivo) al 2% con un 34.95%, el gel de hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) al 1% con un 19,27%, el extracto al 20% con un 12.4% y el que desinflamo en menos cantidad fue el extracto al 10% con 11.8%. Indican que esto se debe al alto contenido de secoiridoides, flavonoides y compuestos terpénicos presentes en las hojas de olivo. <sup>(9)</sup>

Ibarra Baernuy J. (2019). Realizaron la determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* (mashua) en *Rattus rattus var. albinus*. Sabiendo que el extracto contenía alta cantidad de fenoles y flavonoides se muestra que con el grupo blanco la inflamación se llegó a notar a las 5 horas, con el grupo estándar la inflamación en la 5 hora disminuye indicando que el porcentaje de inhibición inflamatoria del extracto al 1% del tubérculo fue a la 1h: 39.6%, 3h: 69%, y a las 5h -, 95%, mientras que, con la inhibición del extracto al 2.5% del tubérculo fue a 1h: 41,5%, 3h: 74.6% y a la 5H; 97.5%. <sup>(10)</sup>

Vargas E. (2017), investigará la capacidad antioxidante de los extractos etanólico usando las metodologías FRAP Y ORAC, e identificó los compuestos fenólicos presentes en los extractos etanólico vegetales por medio de EASI- MS. Resultado: se halló que los extractos etanólico de las hojas de eucalipto, olivo y tayakasi son ricos en compuestos fenólicos y flavonoides dando el olivo con un rango de fenoles de 9184, 1 EAGmL-1, de actividad antioxidante de 58820,73umolTEml -1(olivo).” <sup>(11)</sup>

Por lo tanto, el Objetivo de la investigación fué Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada con extracto de las hojas de *Olea europaea L.* (olivo) en *Rattus norvegicus var. Albinus* con edema plantarinducido.

Se tuvo como hipótesis General de la investigación: La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) tenía como efecto antiinflamatorio en *Rattus norvegicus var. albinus* con edema plantar inducido.

## II. MATERIALES Y METODOS

### II.1. Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque de la investigación Cuantitativo:** porque se realiza la medición de la pata del animal de experimentación en periodos de tiempos establecidos

**Diseño Experimental:** se manipula la variable independiente “Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo)” bajo condiciones que están siendo controladas.

**El tipo de esta investigación es** <sup>(12,13)</sup>:

- Analítico: establece la relación que existe entre las variables de estudio.
- Longitudinal: observa al mismo grupo de manera repetida a lo largo de un período.

### II.2. Población, muestra y muestreo

#### **Población:**

- Plantaciones de *Olea europaea L.* (olivo) proveniente del distrito de Cocachacra, provincia Islay, departamento Arequipa.
- *Rattus norvegicus var. albinus* provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Salud.

#### **Muestra:**

- 250 gr de las hojas de *Olea europaea L.* (olivo) proveniente del distrito de Cocachacra, provincia Islay, departamento Arequipa las cuales fueron analizadas y validadas según el certificado de estudio taxonómico del Herbario de la Universidad Nacional de San Agustín.
- 25 *Rattus norvegicus var. Albinus* provenientes del Instituto Nacional de Salud con sede en Lima – Perú.

#### **Criterios de inclusión**

- Hojas de ***Olea europaea L.*** (Olivo) enteras y sin manchas.
- Crema a base de las hojas de ***Olea europaea L.*** (Olivo) al 2% y 4%.
- ***Rattus norvegicus var. albinus*** machos.

#### **Criterios de exclusión**

- Hojas de otra especie vegetal que no sean de ***Olea europaea L.*** (Olivo).
- ***Rattus norvegicus var. albinus*** hembras.

### Muestreo:

El siguiente estudio fue un muestreo aleatorio simple al azar, por ser un tipo de muestreo probabilístico para cada elemento de la población elegida, la misma opción ser seleccionado como muestra. (tabla1).

TABLA 1: Distribución de los grupos experimentales

GRUPOS	TRATAMIENTO	NUMERO DE <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i>
Grupo 1 Control negativo1	No se aplicó ninguna crema	5
Grupo 2 Control positivo	AIES en crema: betametasona	5
Grupo 3 problema 1	Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) al 4%	5
Grupo 4 problema 2	Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) al 2%	5
Grupo 5 Control negativo 2	Crema base	5

### II.3. Variabilidad de la investigación

**Variable independiente:** Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo).

Definición conceptual: Los principios activos presentes en las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) presentan propiedades biológicas muy variadas por ende se demuestra su actividad antiinflamatoria para diferentes problemas de salud.

Definición operacional: Metabolitos secundarios como los alcaloides, fenoles, secoiridoides, etc.

**Variable dependiente:** Efecto antiinflamatorio

Definición conceptual: Es un proceso que revierte la inflamación que se inicia con vasodilatación arterial, con hiperemia tisular e incremento de permeabilidad celular, que sirve como sustento en esta investigación para demostrar dicha actividad.

Definición operacional: Las propiedades de la crema elaborada a base del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) fueron medidas a través del indicador tiempo, de acuerdo al cronograma de las tesis.

#### **II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**

- **Técnicas**

**Observación:** permite obtener mayor cantidad de datos, de acuerdo a como va variando la inflamación en la pata del animal de experimentación con respecto al tiempo.

- **Instrumentos**

Ficha de recolección de datos experimentales para registrar la relación inflamación vs tiempo.

#### **II.5. Plan metodológico para la recolección de datos**

- **Recolección del recurso vegetal**

Las muestras fueron recolectadas en el distrito de Cocachacra, provincia de Islay, departamento de Arequipa en el periodo de poda (mayo – julio 2021). Se realizaron los siguientes pasos. <sup>(18)</sup>

Se obtuvieron las hojas de las ramas que fueron podadas, utilizando aquellas que no estén dañadas o partidas, las cuales fueron guardadas en bolsas de papel para trasladar al laboratorio.

- **Identificación botánica**

Mediante la constancia N° 98-2019-HUSA se indicó la especie a la que pertenece la planta a aprender y de esta forma se verificó que fue la misma que se pretende aprender. Para la entrega de la muestra se tuvo en cuenta las siguientes consideraciones (Anexo N°). <sup>(19)</sup>

La planta en estudio debía tener estructuras reproductivas como son la flor y el fruto, entregando así una rama con las características descritas ya que el *Olea*

*europaea L.* (Olivo) es un árbol enorme, se llevó al herbario la muestra protegida con papel kraft para eludir que se maltrate.

- **Selección de hojas de *Olea europaea L.*(olivo)**

Solo se tomaron en cuenta las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) que se encontraban completas y que no tuviesen manchas, sustancias y/o microorganismos extraños. <sup>(20)</sup>

- **Lavado y secado del recurso vegetal**

Se lavó de 2 a 3 veces con abundante agua destilada para eliminar las partículas de tierra que puedan tener, se colocaron sobre papel Kraft para escurrir el exceso de agua destilada, se llevó las hojas en rejillas en la estufa, precalentada a 40°C, las hojas permanecieron en la estufa hasta tener peso constante. <sup>(21,22)</sup>

- **Preparación del extracto etanólico**

Se lavó y desinfectó el frasco de vidrio, en el que se llevó a cabo la maceración, previamente se pesó 250 gr de la muestra, se colocó al frasco de vidrio con 500 ml etanol 96° y se dejó reposar por 10 días, el cual se agitó de 2 a 3 veces por día para facilitar la extracción. <sup>(15)</sup>

- **Marcha fitoquímica**

**Saponinas**

Para la determinación de saponinas se realizó los siguientes pasos: Se tomó un alícuota del extracto y se colocó en un tubo de ensayo, se agregó 5 ml de agua destilada a 40°C, se agitó vigorosamente durante 30 segundos, la presencia de espuma en el tubo de ensayo se consideró positiva para saponinas. <sup>(23)</sup>

**Alcaloides**

Para la determinación de alcaloides se siguió los siguientes pasos: Se tomó un alícuota del extracto, se agregó 2ml de ácido clorhídrico al 50%, se agitó y se filtró hasta que este sea transparente, se tomó un alícuota del filtrado y se agregó el reactivo de Mayer y Dragendorff, se consideró positivo al formarse un precipitado. <sup>(24)</sup>

### **Triterpenos**

Para la determinación de triterpenos se realizó los siguientes pasos: Se tomó un alícuota del extracto, se disolvió en 1ml de cloroformo, se agregó por las paredes 1ml de ácido acético, se dejó reposar, se añadió 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico, al presentarse la coloración roja, rosada, verde, púrpura o azul, se consideró la prueba como positiva. <sup>(24)</sup>

### **Flavonoides**

Para la determinación de flavonoides se realizó los siguientes pasos: Se tomó 1ml del extracto de hojas de *Olea europaea L.* (Olivo), se añadió un trozo de viruta de magnesio amalgamado y 5 gotas de ácido clorhídrico concentrado, la coloración entre rojo y magenta demostró la prueba como positiva. <sup>(25)</sup>

### **Taninos**

Para la determinación de taninos se realizó los siguientes pasos: Se colocó 1ml del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) en un tubo de ensayo, se agregó 3 gotas de gelatina-cloruro de sodio, se centrifugó a lo largo de 1 minuto, la existencia de precipitado o turbidez blanco indicó que es positivo para taninos. <sup>(24)</sup>

#### **- Elaboración de la crema agua en aceite(w/o)**

La crema que se utilizó está basada en compuestos de procedencia oleosa.

TABLA 2: Formulación de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) al 2%

Esperma de ballena	2.7 g
Cera blanca	13.3 g
Vaselina líquida	62.2 g
Borato sódico	0.6 g
Agua de rosas	21.1 g
Extracto de hojas de <i>Olea europaea L.</i> (Olivo).	2.0 g

Fuente: Elaboración propia.



TABLA 3: Formulación de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) al 4%

Esperma de ballena	2.7 g
Cera blanca	13.3 g
Vaselina líquida	62.2 g
Borato sódico	0.6 g
Agua de rosas	21.1 g
Extracto de hojas de <i>Olea europaea L.</i> (Olivo).	4.0 g

Fuente: Elaboración propia.

Se realizó los siguientes pasos para la formulación de cremas elaboradas con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) tanto al 2% como al 4%:<sup>(26)</sup>

Se procedió a fundir el esperma de ballena con la cera blanca y después se añadió la vaselina líquida, se aumentó el borato sódico y se mezcló enérgicamente, Se añadió el agua de rosas con el extracto de hojas de *Olea europaea L.* (olivo).

#### - **Determinación microbiológica**

Según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42-NF 37 edición en español) vigente se determinó lo siguiente:

##### o **Determinación de aerobios mesófilos totales**

Esta prueba permitió realizar el “recuento de microorganismos mesófilos” en 10g de muestra: Se tomaron 10 g de la crema elaborada con el Extracto de hojas de *Olea europaea L.* (Olivo), a esta se le añadió el caldo enriquecido en una cantidad de (1:10), se procedió a plantar 0,1 ml de la solución final en Agar digerido Caseina-Soja, se incubó las placas a lo largo de 3 días a una temperatura de 30°C a 35°C, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonia (ufc/g).<sup>(27)</sup>

○ **Determinación de *Pseudomonas aeruginosa***

Esta prueba permitió conocer la “presencia o ausencia” de *Pseudomonas aeruginosa* en 1 g ó 1 ml de muestra. Se tomó 1 ml de la solución preparada para aeróbios mesófilos y diluirla en Agar Caseina-Soja hasta obtener 100 ml, se incubó esta solución a lo largo de 18 a 24 horas a una temperatura de 30°C a 35°C. Se sembró las placas con Agar Cetrimida con 0,1 ml de la solución previamente mencionada y se incubó a lo largo de 18 a 72 horas a una temperatura de 30°C a 35°C, de haber crecimiento de colonias verdosas se debió contar e identificar a la bacteria. (27,28)

○ **Determinación de *Staphylococcus aureus***

Esta prueba permitió conocer la “presencia o ausencia” de *Staphylococcus aureus* en 1 g ó 1 ml de muestra. Se tomó 1 ml de la solución preparada para aeróbios mesófilos y diluyó en Agar digerido Caseina-Soja hasta obtener 100 ml, se incubó esta solución durante 18 a 24 horas a una temperatura de 30°C a 35°C, se sembró las placas con Agar Manitol- Salado con 0,1 ml de la solución antes mencionada y se incubo durante 18 a 72 horas a una temperatura de 30°C a 35°C. De haber crecimiento de colonias amarillas o blancas rodeadas de amarillo, se debió contar e identificar la batería para descartar *Staphylococcus aureus*. (27,28)

○ **Determinación de *Escherichia coli***

Esta prueba permitió conocer la “presencia o ausencia” de *Escherichia coli* en 1 g ó 1 ml de muestra. Se tomó 1 ml de la solución preparada para aeróbios mesófilos y diluirla en Agar digerido Caseina-Soja hasta obtener 100 ml, se incubo esta solución durante 18 a 24 horas a una temperatura de 30°C a 35°C. Se sembró las placas con Agar Mac Conkey con 0,1 ml de la solución anteriormente mencionada y se incubo a lo largo de 18 a 72 horas a una temperatura de 30°C a 35°C. De haber crecimiento de colonias realizar la identificación para descartar *Escherichia coli*. (27,28)

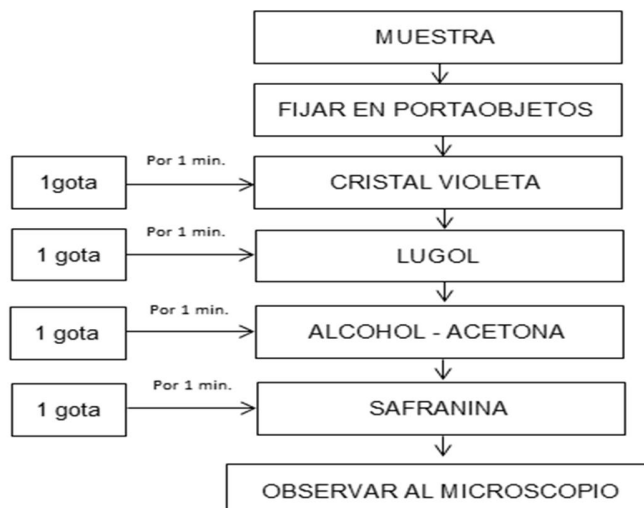
○ **Determinación de hongos filamentosos y levaduras**

Esta prueba permitió conocer la “presencia o ausencia” de Hongos filamentosos y levaduras en 1 g ó 1 ml de muestra. Se tomó 10 g de la crema elaborada con el extracto de hojas de *Olea europaea L.* (Olivo), se agregó al caldo enriquecido en una proporción de (1:10), se procedió a sembrar 0,1 ml de la solución final en Agar Sabouraud, se incubaron las placas durante 5 días a una temperatura de 20°C a 25°C. (27,28)

○ **Reconocimiento de estructuras bacterianas**

Se utilizó la tinción Gram cuyo procedimiento fue: Se tomó una alícuota de la muestra y se colocó en el portaobjeto se fijó la muestra mediante calor, pasando el portaobjetos tres veces sobre la llama el mechero, agregar 2 gotas de cristal violeta durante 1 minuto, se lavó en agua cruda el portaobjetos, para quitar el exceso de colorante, se agregó 2 gotas de Lugol durante 1 minuto, se lavó con agua cruda, se decoloró con una mezcla de alcohol - acetona echándole dos gotas durante 20 segundos, se lavó con agua destilada, se añadió un colorante de contraste: Safranina, durante 1 minuto, se observó al microscopio.(24)

FIGURA N° 1: Técnica de la tinción de Gram.



- **Determinación de pH de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas *Olea europaea* L. (olivo)**

Para la determinación de pH: Se colocó en un beaker la crema realizada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (*Olivo*), se humedeció la tira de pH en la crema realizada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (*Olivo*), se comparó los colores resultantes de la tira de pH con los que están con la gráfica que proporcionó el fabricante de las tiras. <sup>(29)</sup>

- **Ensayo de estabilidad de la crema (W/O) elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo)**

**Acelerado:** se llevó a la estufa a 40°C por dos semanas, se evaluó si hay separación de fases o cambio de color. <sup>(30)</sup>

**Estantería:** se dejó una muestra a 20°C por 4 meses y evaluó si hay separación de fases o cambio de color. <sup>(30)</sup>

- **Inducción del edema plantar en *Rattus norvegicus* var *albinus* con carragenina**

Se administró 0,1ml de carragenina al 1% en la pata derecha posterior de la *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Se administró las diferentes sustancias a los diferentes grupos y se hizo la lectura de la pata derecha de cada *Rattus norvegicus* var. *albinus* con el vernier a la 0, 3, 5 y 7 horas, se comparó con la crema Betametasona del laboratorio Farminindustria. Los grupos a evaluar fueron divididos de la siguiente manera:<sup>(9, 10)</sup>

## **II. 6. Procedimiento del análisis estadístico**

Los datos conseguidos fueron analizados estableciendo las medidas de tendencia central y se aplicó el estudio de varianza ANOVA para contrastar la hipótesis debido a que estas pruebas nos indican si las medidas entre 2 o más equipos son equivalentes o diferentes. Los resultados se procesaron mediante software estadístico (Microsoft Excel y SPSS,), y se presentaron en tablas y figuras.

## II.7. Aspectos éticos

En la presente indagación poseemos como recurso natural al *Olea europaea L.* (Olivo) y recurso biológico a *Rattus norvegicus var. albinus*, los cuales fueron utilizados con el objeto de un bien común para la sociedad, poseemos el compromiso de estar en constante observación, de tal forma que no perjudique la realidad y la paz de estos recursos como es la depredación de los árboles de olivo, no causando daño a los animales de experimentación teniendo presente los derechos y consentimientos científicos, de esta forma respetar al medio ambiente para lograr impulsar las Buenas Prácticas de laboratorio.

## V. RESULTADOS

### 5.1. CARACTERÍSTICAS DEL EXTRACTO

El extracto obtenido por maceración de las hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) presentó las siguientes características:

- Color: verde oscuro.
- Olor: característico a *Olea europaea L.* (Olivo).
- Aspecto: uniforme.
- Consistencia: líquida.

### 5.2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LAS HOJAS DE *Olea europaea L.* (Olivo)

TABLA 4: Determinación de la solubilidad

SOLVENTE	RESULTADO
Etanol	Soluble
Metanol	Soluble
Benceno	No soluble
Butanol	No soluble

Con dichos resultados se pudo determinar el solvente usado para esta investigación, y proceder con la extracción de los metabolitos secundarios de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo)

### 5.3. DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

TABLA 5: Determinación de metabolitos secundarios

OBJETIVO DE LA REACCIÓN	REACCIÓN	RESULTADO
Compuestos fenólicos	-	Positivo
Taninos	Gelatina	Positivo
Flavonoides	Shinoda	Positivo
Antraquinona	NaOH	Positivo
Aminoácidos	Ninhidrina	Negativo
Alcaloides	Mayer	Positivo
	Dragendorff	Positivo
Esteroides y triterpenos	Liebermand buchard	Negativo
Saponinas	-	Negativo

En el presente cuadro podemos observar que las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) tienen taninos, flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos que le dan la actividad antiinflamatoria.

### 5.4. CARACTERÍSTICAS DE LA CREMA

La crema del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) presentó las siguientes características:

- Olor: característico a *Olea europaea* L. (Olivo).
- Color: verde olivo.
- Textura: homogéneo.

## 5.5. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA DE *Olea europaea* L. (Olivo).

TABLA 6: Control microbiológico de la crema de las hojas de *Olea europaea* L. (olivo).

Microorganismo a identificar	Clasificación	Crema de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo).	
		2%	4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC 9027	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Ausente	Ausente
<i>Salmonella entérica</i>	ATCC 14028	Ausente	Ausente
<i>Cándida albicans</i>	ATCC 10231	Ausente	Ausente
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	Ausente	Ausente

Como podemos ver en el cuadró la crema de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo). No presentó microorganismos, lo cual indica que se puede utilizar con seguridad para la determinación del efecto antiinflamatorio.

## 5.6. CONTROL DE ESTABILIDAD DE LA CREMA DE *Olea europaea* L. (Olivo)

TABLA 7: Ensayo de estabilidad en tiempo real de la crema de las hojas de *Olea europaea* al 2%.

Fecha Programada		09/10/20	23/10/20	07/11/20	21/11/20	04/12/20	18/12/20	01/01/21
Parámetros determinados	Especificaciones: Tec. Propia	Tiempo 0	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 90
Aspecto	Uniforme	C	C	C	C	C	C	C
Color	Según especificación	C	C	C	C	C	C	C
pH	5.0 – 7.0	5.0	5.1	6.2	6.4	6.6	6.5	6.7
Recuento de Aerobios Mesófilos	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C
Detección de <i>Escherichia coli</i>	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C

TABLA 8: Ensayo de estabilidad en tiempo real de la crema de *Olea europaea* al 4%.

Fecha Programada		09/10/2	23/10/2	07/11/2	21/11/2	04/12/2	18/12/2	01/01/2
		0	0	0	0	0	0	1
Parámetros determinados	Especificaciones: Tec. Propia	Tiempo 0	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 90
Aspecto	Uniforme	C	C	C	C	C	C	C
Color	Según especificación	C	C	C	C	C	C	C
pH	5.0 – 7.0	5.0	5.1	5.5	5.6	5.9	5.8	6.3
Recuento de Aerobios Mesófilos	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C
Detección de <i>Escherichia coli</i>	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C

Según los resultados obtenidos en el ensayo de estabilidad en tiempo real, se concluye que la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* (olivo) se encuentra dentro de las especificaciones establecidas según la normativa vigente.



## 5.1.6 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

TABLA 9: Evaluación del efecto antiinflamatorio

	Peso (gr)	Basal	1h	3h	5h	7h
<b>Basal</b>	230	0.45	0.85	0.85	0.8	0.7
	231	0.45	0.80	0.85	0.85	0.8
	212	0.45	0.77	0.80	0.80	0.79
	221	0.45	0.80	0.80	0.80	0.85
	219	0.5	0.85	0.85	0.85	0.85
<b>Betametasona</b>	203	0.45	0.80	0.83	0.83	0.83
	196	0.5	0.8	0.8	0.9	0.85
	194	0.5	0.9	0.9	0.85	0.85
	185	0.5	0.95	0.95	0.9	0.85
	185	0.5	0.95	0.95	0.9	0.9
<b>CREMA DE <i>Olea europaea</i> (olivo) al 4%</b>	214	0.5	0.8	0.8	0.7	0.65
	214	0.45	0.65	0.65	0.6	0.55
	212	0.5	0.9	0.9	0.8	0.7
	209	0.5	0.9	0.9	0.7	0.65
	212	0.5	0.8	0.7	0.65	0.6
<b>CREMA DE <i>Olea europaea</i> (olivo) al 2%</b>	226	0.45	0.7	0.9	0.85	0.75
	223	0.45	0.7	0.9	0.85	0.8
	230	0.45	0.8	0.9	0.8	0.77
	229	0.4	0.7	0.80	0.71	0.69
	247	0.45	0.7	0.86	0.81	0.79
<b>Crema base</b>	225	0.45	0.85	1	0.90	0.95
	211	0.45	0.75	0.90	0.90	0.9
	230	0.45	0.75	0.85	0.85	0.85
	230	0.45	0.8	0.89	0.89	0.89
	239	0.4	0.73	0.76	0.80	0.80

Como se observa en el presente cuadro 5 grupos que están conformados por 5 ratas cada uno, las cuales se consideró su peso corporal en gramos, su peso de la pata antes de ser inducida a carragenina como basal, y se tuvo un control su aumento y disminución del volumen de la pata a la 1h, 3 hora, 5horas y 7 horas

TABLA 10: Evaluación del efecto antiinflamatorio en porcentaje

	Peso (gr)	Basal	1h	3h	5h	7h
<b>Basal</b>	230	0.45	88.9	88.9	77.8	55.6
	231	0.45	77.8	88.9	88.9	77.8
	212	0.45	71.1	77.7	77.7	75.6
	221	0.45	77.8	77.8	77.8	77.8
	219	0.5	70.0	70.0	70.0	70.0
<b>Betametasona</b>	203	0.4	77.7	62.2	62.2	62.2
	196	0.5	66.7	66.7	100	70.0
	194	0.5	100	100	70.0	70.0
	185	0.5	90.0	90.0	80.0	70.0
	185	0.5	90.0	90.0	100	100
<b>CREMA DE Olea europaea (olivo) al 4%</b>	214	0.5	60.0	60.0	40.0	30.0
	214	0.45	44.4	44.4	33.3	22.2
	212	0.5	80.0	80.0	60.0	40.0
	209	0.5	80.0	80.0	40.0	30.0
	212	0.5	60.0	40.0	30.0	20.0
<b>CREMA DE Olea europaea (olivo) al 2%</b>	226	0.45	55.6	100.0	88.9	66.7
	223	0.45	55.6	100.0	88.9	77.8
	230	0.45	77.8	100.0	77.8	71.1
	229	0.4	75.0	100	77.5	72.5
	247	0.45	55.6	91.1	80.0	75.6
<b>Crema base</b>	225	0.45	88.9	97.1	100	100
	211	0.45	66.7	100	100	100
	230	0.45	66.7	88.9	88.8	88.8
	230	0.45	77.8	97.7	97.7	97.7
	239	0.4	82.5	90.0	100	100

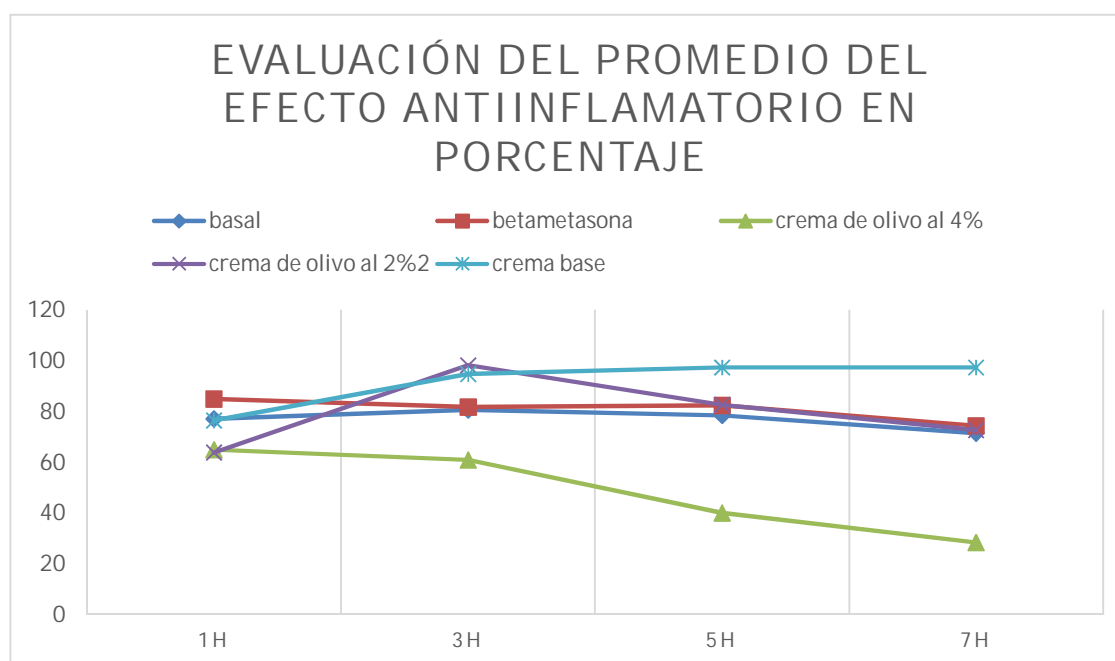
Como se observa en el presente cuadro se tomó en cuenta el porcentaje de 5 grupos que están conformados por 5 ratas cada uno, las cuales se consideró su peso corporal en gramos, su peso de la pata antes de ser inducida a carragenina como basal, y se tuvo un control su aumento y disminución del volumen de la pata a la 1h, 3 hora, 5horas y 7 horas

TABLA 11: Evaluación del promedio del efecto antiinflamatorio en porcentaje

	Peso en gr	Basal	1 h	3h	5h	7h
Basal	222.6	0.46	77.1	80.6	78.4	71.4
Betametasona	192,6	0.48	84.9	81.8	82.4	74.4
Crema de Olea europaea (olivo)al 4%	212.2	0.49	64.9	60.9	40.1	28.4
Crema de Olea europaea (olivo)al 2%	231	0.44	63.9	98.2	82.6	72.7
Crema base	227	0.44	76.5	94.7	97.3	97.3

Como se observa en el presente cuadro se tomó en cuenta el promedio del porcentaje de 5 grupos que están conformados por 5 ratas cada uno, las cuales se consideró su peso corporal en gramos, el ancho en (mm) de la pata antes de ser inducida la inflamación con carragenina como basal, y se tuvo un control su aumento y disminución del volumen de la pata a la 1h, 3 hora, 5horas y 7 horas en promedio del porcentaje.

GRAFICO 1: Evaluación del promedio del efecto antiinflamatorio en porcentaje



## CONTRASTACIÓN HIPÓTESIS ESTADÍSTICA ANOVA Y TUKEY

SEGUN ANOVA: En esta prueba estadística se comparó las medias entre las muestras de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea L.* (olivo) a diferentes concentraciones en *Rattus norvegicus* var. albinus con edema plantar inducido, verificando el efecto antiinflamatorio y compara con un control positivo como betametasona.

### **PRUEBA DE HIPOTESIS**

H0= no existe diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P>0.005)

H1= existe diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P>0.005)

TABLA N° 12: Estadística según ANOVA

RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Basal	4	307.5	76.875	15.4091667		
betametasona	4	323.5	80.875	20.4358333		
crema al 4 %	4	194.3	48.575	299.089167		
crema 2%	4	317.4	79.35	216.27		
crema base	4	365.8	91.45	100.836667		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4099.735	4	1024.93375	7.85942918	0.001267275	3.055568276
Dentro de los grupos	1956.1225	15	130.408167			
Total	6055.8575	19				

$\alpha \geq 0.05$

F: 7.86

P:0.001

H0:  $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

H1: al menos una de las medias es diferente

Toma de decisión: si  $p \geq \alpha$ , se acepta la  $H_0$

Conclusión: se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.

SEGÚN TUKEY: agrupa las medias en diferentes familias y las compara entre sí con el fin de identificar si una de estas muestras difiere de las otras

HSD= 22.31666887

Multiplicador = 4.37

Mse= 130.4081667

N°= 5

TABLA N° 13: Estadística según TUKEY

	BASAL	BETAMENTASONA	CREMA 4%	CREMA 2%	CREMA BASE
BASAL		-4	28.3	-2.475	-14.575
BETAMETASONA	4		32.3	1,53	10,57
CREMA AL 4 %	-28.3	-32.3		-30.775	-42.875
CREMA 2%	2.475	-1.525	30.775		-12.1
CREMA BASE	14.58	10.57	42.875	12.1	

HSD es el indicador si presenta diferencia entre los grupos

Conclusión: para indicar que se tiene diferencia entre los grupos (basal, betametasona, crema al 4%, crema 2%, crema basal) realizado en el cuadro anterior, dichos resultado deberán ser mayo al valor honestamente significativo (HSD) los cuales tenemos que son los marcados de color verde indicándonos que en caso basal a comparación de los otros grupos existe diferencia con la crema de olivo al 4%; en el caso de betametasona indica diferencia con la crema de olivo al 4%; en el caso de crema de olivo al 4 % indica diferencia con la crema de olivo al 2% y la crema base

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1. DISCUSION DE RESULTADOS

Al realizar la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) se identificaron metabolitos secundarios como los alcaloides, flavonoides, antraquinonas, taninos, compuestos fenólicos, estos resultados confirman los hallados por Ilieva G. (2019), Ibarra Baernuy J. (2019) y Paredes E. y Polar S. (2016) quienes también los identificaron en otras Investigaciones.

Al comparar la acción antiinflamatoria con el medicamento Betametasona (corticoide), se evidenció que la crema a base del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo), posee efecto antiinflamatorio lo que lo hace superior a los extractos estudiados según Winter C., et al.

Al determinar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) que le dan el efecto antiinflamatorio a la crema elaborada, en esta investigación se pudo evidenciar que el efecto de concentración al 2 % y al 4 %, presenta similar eficacia que la Betametasona en el proceso de inflamación, dando así una futura iniciativa de la producción y desarrollo de esta crema con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo), ya que está a base de una planta que se encuentra al alcance de la población, y así producir la crema a una mayor escala, ya que se podría obtener a un costo menor o igual a los productos genéricos que se encuentran en el mercado.

### IV.2. CONCLUSIONES

- La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) en *Rattus norvegicus* var. albinus con edema plantar inducido, tiene actividad antiinflamatoria.
- Los metabolitos identificados en el extracto etanólico de la hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) fueron alcaloides, flavonoides, antraquinonas, taninos, compuestos fenólicos.

- La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) cumple con las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42) tanto en la estabilidad e inocuidad.
- Las cremas elaboradas con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) a diferentes concentraciones (2% y 4%) tuvieron actividad antiinflamatoria en las *Rattus norvegicus* var. albinus con edema plantar inducido.
- La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) al 4% tuvo mayor actividad antiinflamatoria que la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) al 2% en *Rattus norvegicus* var. albinus con edema plantar inducido.

### **IV.3. RECOMENDACIONES**

- Que nuestra investigación sirva como motivación a los Químicos Farmacéuticos para Investigaciones posteriores para así determinar la eficacia de la crema de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) para el uso en seres humanos.
- Realizar estudios cuantitativamente de los compuestos presentes en los extractos de hojas de *Olea europaea* L. (Olivo)
- Investigar la dosis tóxica para determinar la seguridad del uso de la crema de las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo) en seres humanos.
- Analizar las otras propiedades que puede tener las hojas de *Olea europaea* L. (Olivo).
- Realizar más estudios similares para reactivar los laboratorios de investigación que por pandemia no están funcionando con normalidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Estrategias de la OMS sobre la medicina tradicional [En línea] Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2013 [Citado 12 noviembre 2019] Disponible en <https://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
2. Organización Panamericana de salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima, 2018
3. Ministerio de Agricultura (MINAGRI) [En línea] Perú; 2019 [Citado el 13 noviembre 2019] Disponible en: <https://www.gob.pe/minagri>
4. Sánchez Sanz, Beatriz. Medicamentos antiinflamatorios genéricos: estudio comparativo de las principales presentaciones del diclofenaco y sus aplicaciones en artrosis. Madrid. 2017. [consultado julio de 2021]. disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/BEATRIZ%20SANCHEZ%20SANZ.pdf>
5. Barranco D. Fernández Escobar R. Rallo L. El cultivo del olivo. 7ed. Madrid. 2017.
6. Martínez Robinson, Cárdenas Román F, Campa Nada A, Toledo Guillen A, Características de los residuos sólidos de la extracción del aceite de oliva de Caborca, Sonora, México. 2019. [consultado agosto de 2021], disponible en: <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/1011/341>
7. Talhaoui, N. Evaluación analítica, agronómica y biológica de compuestos fenólicos en productos y subproductos de *Olea europaea*. Tesis Doctoral. Granada. 2016.
8. Iliava G. Hojas de olivo: Interés farmacológico y patentes de sus principios activos. Trabajo de Grado. España; 2019.
9. Paredes E. y Polar S. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de hojas de *Olea europaea L.* (Olivo) en edema plantar inducido en animales de experimentación. [Tesis para optar el grado de Químico Farmacéutico] Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2016.
10. Ibarra Bernuy J. efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* (mashua) en *Rattus rattus var. albinus*. Chimbote, Perú. 2019. [consultado agosto de 2021], disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/16247/ANTIINFLAMATO>



RIO\_MASHUA\_IBARRA\_BERNUY\_JAZMIN\_INDIRA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

11. Vargas tapia Eulalia, caracterizas del perfil fenólico y flavonoide de *eulalyptos*, *olea europeae* y *lippia nodiflora* con potencial antioxidante. Lima Perú. 2019. [consultado agosto de 2021], disponible en: [https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/2951/Eulalia\\_Tesis\\_Licenciatura\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/2951/Eulalia_Tesis_Licenciatura_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
12. Lerma H. Metodología de la investigación: Propuesta, anteproyecto y proyecto. 5<sup>ta</sup> Edición. Ecuador: Editorial ECOE; 2016.
13. Ñaupas H., Valdivia M., Palacios J. y Romero H. Metodología de la investigación: Cualitativa – cuantitativa y redacción de la tesis. 5<sup>ta</sup> edición. Bogotá: Editorial de la U; 2018.
14. Arteché A, Vanaclocha B, Güenechea J. Fitoterapia. Vademécum de prescripción. Plantas medicinales. 3<sup>ra</sup> Edición. Barcelona.1998.
15. Lock O. Investigación fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales. 3<sup>ra</sup> Edición. Lima: Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
16. López E., Otonobes S. y García A. Ungüentos, pomadas, pastas y geles ¿Es todo lo mismo? España. 2015.
17. Winter C., et al. Edema inducido por carragenina en la pata trasera de la rata como un ensayo para fármacos antiinflamatorios. EEUU. 1962. Pág. 544– 547
18. Young A. Guía para la recolección de plantas medicinales nativas. Chile: Editorial FSC-Chile; 2016.
19. Cascante A. Guía para la recolecta y preparación de muestras botánicas. Costa Rica. 2008.
20. Albi T, Guinda M y Lanzón A. Procedimiento de obtención y determinación de ácidos terpénicos de la hoja de olivo (*Olea europaea* L.) [Trabajo de investigación] España: Instituto de la Grasa (CSIC); 2001.
21. Romero M. Plantas aromáticas: tratado de aromaterapia científica. 1<sup>ra</sup> Edición. Buenos Aires. 2004.
22. Valencia E., et al. Extracción, identificación y evaluación de saponinas. Vol. 5 México: Biotempo; 2005.
23. Díaz J., Fernández M. y Paredes F. Aspectos básicos de bioquímica clínica. Madrid: Editorial Días de los Santos; 1997.
24. Friedman H. Manual de Diagnostico. 5<sup>ta</sup> Edición. Barcelona: Mason. 2004.

25. Garcia M. Diagnóstico de la cadena productiva del olivo para mejorar las condiciones económicas de los pequeños productores de bella unión, provincia de Caravelí [Tesis para obtener el grado académico de administrador de negocios] Lima: Universidad Ricardo Palma; 2019
26. Farmacopea de los estados Unidos de América. Formulario nacional. EEUU. 2008
27. OXOID. Sistemas avanzados de Análisis. [En línea]. España; 2012 [citado 20 noviembre 2019]. Disponible en: <http://www.analisisavanzados.com/index.php/industria-cosmetica-microbiologia-iso>
28. Dávila C. Formulación magistral en dermatología: situación actual de los aspectos prácticos de la Farmacotecnia en un servicio de farmacia. Madrid. 2011. p. 217-44. 2.
29. Del Valle de la Cortina, M. Mediciones y métodos de uso común en el laboratorio químico. Argentina: Interamericana; 2010.

## ANEXOS

### ANEXO A: Determinación de la inflamación de los grupos tratados transcurridos distintos tiempos

	N° RATA	T0: 0Hrs (ml)	T1: 3Hrs (ml)	T2: 5Hrs (ml)	T3: 7Hrs (ml)
<b>Grupo 1</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 2</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 3</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 4</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 5</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

**ANEXO B: Porcentaje de la inflamación producidos por los grupos tratados transcurridos distintos tiempos**

	N° RATA	T0: 0Hrs (ml)	T1: 3Hrs (ml)	T2: 5Hrs (ml)	T3: 7Hrs (ml)
<b>Grupo 1</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 2</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 3</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 4</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
<b>Grupo 5</b>	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

## ANEXOS C: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presentará actividad antiinflamatoria la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) en <i>Rattus norvegicus</i> var albinus con edema plantar inducido?	Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con edema plantar inducido.	La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) tiene efecto antiinflamatorio en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con edema plantar inducido.
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuáles serán los principales metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo)?	Determinar los principales metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo).	Los principales metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria en el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) son los compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides.
¿Cumplirá con los parámetros de estabilidad e inocuidad la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) según las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42-NF 37 edición en español) vigente?	Determinar la estabilidad e inocuidad de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) según las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42-NF 37 edición en español) vigente.	La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) cumple con los parámetros de estabilidad e inocuidad según las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 42-NF 37 edición en español) vigente.
¿Presentará actividad antiinflamatoria la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) a diferentes concentraciones en <i>Rattus norvegicus</i> var albinus con edema plantar inducido?	Determinar la actividad antiinflamatoria de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) a diferentes concentraciones en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con edema plantar inducido.	La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) a diferentes concentraciones en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con edema plantar inducido tiene efecto antiinflamatorio.
¿A qué concentración la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo) presentará mayor actividad antiinflamatoria, cuyo control positivo antiinflamatorio es la Betametasona en crema?	Comparar la eficacia antiinflamatoria de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (olivo) al 4% y al 2% con un control positivo antiinflamatorio como betametasona en crema.	La crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (olivo) al 4% tendrá mayor actividad antiinflamatoria que la del 2%, cuyo control positivo es la betametasona en crema.

**ANEXO D: Operacionalización de las variables**

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS
Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo)	Forma Farmacéutica semisólida para uso tópico	Crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas de <i>Olea europaea</i> L. (Olivo)	Concentración de la crema	2 4	%	2
Efecto antiinflamatorio	Disminución de la inflamación	Disminución del edema	Edema plantar	Tamaño del edema plantar	mm	1

## DOCUMENTOS OBTENIDOS PARA DESARROLLO DE LA INVESTIGACION

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

---

**CONSTANCIA N° 98-2019-HUSA**

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

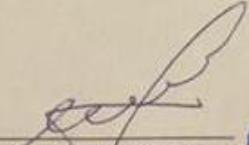
HACE CONSTAR:

Que la muestra seca del espécimen presentada por **María Fernanda Centy Rodríguez**, egresadas de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas para la ejecución de su proyecto de investigación: "**Actividad antiinflamatoria de la crema a base de *Olea europea* (olivo) en ratas albinas con edema plantar inducido**". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Oleaceae
Género	<i>Olea</i>
Especie	<i>Olea europaea</i> L.

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

Arequipa 12 de diciembre del 2019.

  
Mg. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA) 

---

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 993659045  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA - PERÚ

# TAGUMEDICA

## INFORME DE ENSAYO N° 1050-20

EMPRESA / CLIENTE: Centy Rodríguez, María Fernanda

N° de Ficha: 1049-20

DATOS DE LA MUESTRA:

Identificación de la muestra	Código	Descripción	Cantidad de la muestra
Crema a base <i>Olea europaea</i> L. (recurso natural)	1250-20	Concentración del recurso 2%	1 frasco de 100gr
Crema a base <i>Olea europaea</i> L. (recurso natural)	1251-20	Concentración del recurso 4%	1 frasco de 100gr

TIPO DE ENSAYO: Pruebas de límite microbiano USP vigente <61> <62>

- TIPO DE RECEPCIÓN: 12/10/20
- FECHA DE ANÁLISIS: 13/10/20
- FECHA DE EMISIÓN: 25/10/20

Especificaciones:

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN / LÍMITE
Recuento de Bacterias Aeróbicas Mesófilas - RBAM	<10 <sup>3</sup> UFC/g.
Recuento Total combinado de mohos y levaduras RTCHL	<10 <sup>2</sup> UFC/g.
Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia / 0.1ml
Identificación de <i>Escherichia coli</i>	Ausencia / 0.1ml
Identificación de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia / 0.1ml
Identificación de <i>Salmonela entérica</i>	Ausencia / 0.1ml
Identificación de <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Ausencia / 0.1ml
Identificación de <i>Candida albicans</i>	Ausencia / 0.1ml

Nota: Especificaciones según USP vigente <795> <1163>



# TAGUMEDICA

## RESULTADOS.

### 1. Recuento de Bacterias, hongos y levaduras.

MUESTRA	RBAM (<1000UFC/g)				RTCHL (<100 UFC/g)			
	Placa	Placa	Promedio	Resultado	Placa	Placa	Promedio	Resultado
	N°1	N°2		X Fd	N°1	N°2		X Fd
1050-20	12	10	11	11 x 10 UFC	2	<1	1	10 X 10 UFC
	15	11	13	13 X 10 UFC	2	1	1.5	15 X 10 UFC
	12	16	14	14 X 10 UFC	4	6	5	5 X 10 UFC
<b>CONCLUSION</b>	<b>CONFORME</b>				<b>CONFORME</b>			

MUESTRA	RBAM (<1000UFC/g)				RTCHL (<100 UFC/g)			
	Placa	Placa	Promedio	Resultado	Placa	Placa	Promedio	Resultado
	N°1	N°2		X Fd	N°1	N°2		X Fd
1051-20	11	13	12	12 x 10 UFC	1	<1	0.5	< 10 UFC
	1	<1	0.5	< 10 UFC	<1	<1	<1	< 10 UFC
	8	10	9	9 X 10 UFC	2	3	2.5	25 X 10 UFC
<b>CONCLUSION</b>	<b>CONFORME</b>				<b>CONFORME</b>			

# TAGUMEDICA

## 2. IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS PATÓGENOS

Microorganismos a identificar	Clasificación	Muestras	
		1250-20	1251-20
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC 9027	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Ausente	Ausente
<i>Salmonela entérica</i>	ATCC 14028	Ausente	Ausente
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Ausente	Ausente
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	Ausente	Ausente

Nota: Ausencia a / 0.1ml

Nota:

1. El informe de ensayo solo es utilizado para los ítems ensayados y la cantidad recibida.
2. Prohibida la reproducción total y parcial del documento sin autorización de TAGUMEDICA SAC.
3. El resultado del ensayo no debe ser usado como certificación de Conformidad o como certificado de Sistema de Calidad de quien lo produce.
4. Toda muestra biológica será eliminada posterior a su procesamiento.
5. Estos resultados son de uso exclusivo del cliente y no pueden ser utilizados para controversias de tipo legal con terceros.



Q.F. Cesar Alexis Navarro Concha  
Responsable de Microbiología  
DNI: 48116412

# TAGUMEDICA

DTO. DE CONTROL DE CALIDAD

## INFORME DE ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

PRODUCTO: PREPARADOS MEGISTRALES A BASE DE PRODUCTO NATURAL

1. OBJETIVO:

Comprobar mediante los estudios de Estabilidad a tiempo real (T.R.) que el producto se encuentra dentro de las especificaciones establecidas durante los 3 meses de vigencia.

2. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO DE ESTABILIDAD:

2.1. TAMAÑO DE NUESTRA DEL PRODUCTO:

Ensayos fisicoquímicos y de Aspecto: 10gr.

Ensayos microbiológicos: 10gr.

2.2. MÉTODOS DE ENSAYO

Métodos de análisis de acuerdo a técnica propia y USP vigente.

3. ESPECIFICACIONES Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN:

Según especificaciones propias y USP vigente.

4. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y FRECUENCIA DE ANÁLISIS:

Se procederá a realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos con una frecuencia de ensayo indicada en el siguiente cuadro:

TIPO DE ESTUDIO	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	TIEMPO DEL ESTUDIO
Estabilidad a Tiempo Real (T.R.)	25 °C + 2 °C / 60% +5% HR	03 meses

La frecuencia será de la siguiente manera:

Preparados magistrales y oficinales	*T0	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
-------------------------------------	-----	---------	---------	---------	---------	---------	---------

\*T0: Tiempo cero, corresponde al análisis inicial que se realiza a las muestras.

# TAGUMEDICA

## 5. RESULTADOS OBTENIDOS:

### 5.1. ESTUDIOS A TIEMPO REAL:

PRODUCTO: Crema de Olea europaea (olivo) al 2%.

Fecha Programada		09/10/20	23/10/20	07/11/20	21/11/20	04/12/20	18/12/20	01/01/21
Parámetros determinados	Especificaciones: Tec. Progia	Tiempo 0	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 90
Aspecto	Uniforme	C	C	C	C	C	C	C
Color	Según especificación	C	C	C	C	C	C	C
pH	5.0 – 7.0	5.0	5.1	6.2	6.4	6.6	6.5	6.7
Recuento de Aerobios Mesófilos	<30 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<30 UFC	<10 UFC	<30 UFC	<10 UFC	<30 UFC
Detección de Staphylococcus aureus	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C
Detección de Escherichia coli	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C

PRODUCTO: Crema de Olea europaea (olivo) al 4%.

Fecha Programada		09/10/20	23/10/20	07/11/20	21/11/20	04/12/20	18/12/20	01/01/21
Parámetros determinados	Especificaciones: Tec. Progia	Tiempo 0	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 90
Aspecto	Uniforme	C	C	C	C	C	C	C
Color	Según especificación	C	C	C	C	C	C	C
pH	5.0 – 7.0	5.0	5.1	5.5	5.6	5.9	5.8	6.3
Recuento de Aerobios Mesófilos	<30 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<30 UFC	<10 UFC	<30 UFC	<10 UFC	<30 UFC
Detección de Staphylococcus aureus	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C
Detección de Escherichia coli	<100UFC/0.1ml	C	C	C	C	C	C	C

## CONCLUSIÓN:

Según los resultados obtenidos en los resultados de estabilidad a Tiempo Real concluye que los resultados de los productos analizados, se encuentran dentro de las especificaciones establecidas.



Q.F. Cesar Alexis Navarro Concha  
Responsable de Microbiología  
DNI: 48116412

## ANEXO E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo

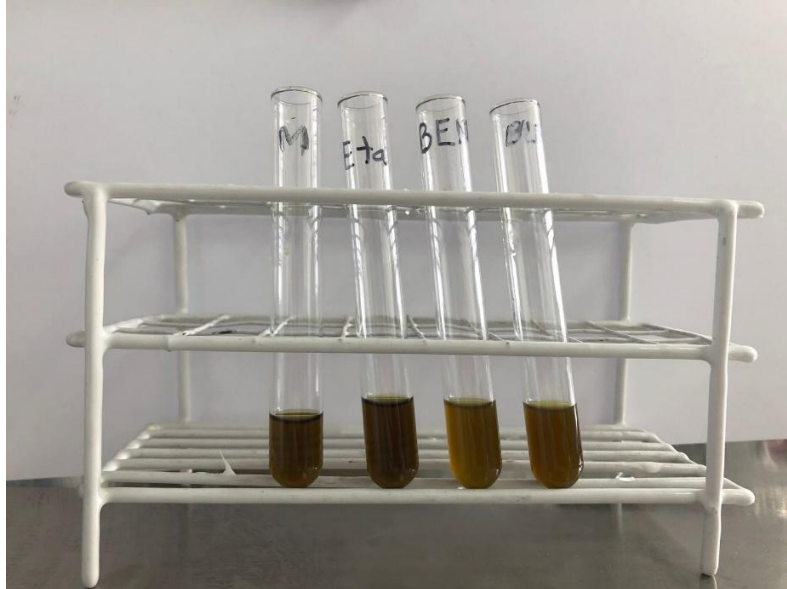


FIGURA 2: Ensayo de Solubilidad.

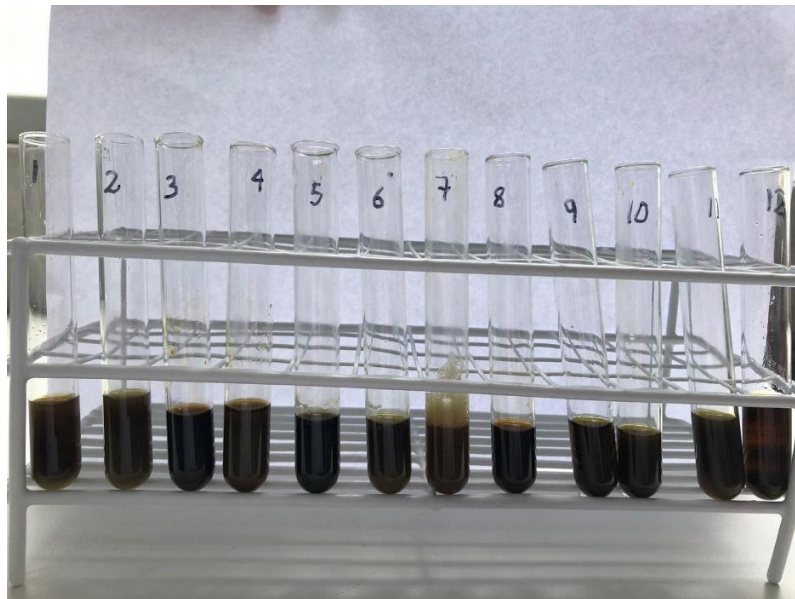


FIGURA 3: Determinación de metabolitos secundarios.



**FIGURA 4:** Cremas de *Olea europaea* (olivo) y crema base utilizadas para la evaluación antiinflamatoria.



**FIGURA 5:** Pesado de *Rattus norvegicus* var. Albinus.



**FIGURA 6:** Inducción del edema plantar con carragenina.



**FIGURA 7:** Medición del edema plantar a las *Rattus norvegicus* var. Albinus.