



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Determinación *in-vivo* del efecto antipirético,
analgésico y antiinflamatorio del extracto
hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera*
Lam. en ratas Holtzman**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Edwin Carlos LIMAY DE LA CRUZ

Katerin TEVES GUZMAN

ASESOR

Francisco Javier María RAMÍREZ CRUZ

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Limay E, Teves K. Determinación *in-vivo* del efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. en ratas Holtzman [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Edwin Carlos Limay De La Cruz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	48446374
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Katerin Teves Guzman
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72739543
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Francisco Javier María Ramírez Cruz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07409206
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-4126-4673
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Luis Alberto Rojas Ríos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09738868
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Ernesto Raúl Torres Veliz
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	21849530
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Oscar Herrera Calderón
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	44789288
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09481617
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y producto terapéutico: (estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de su industrialización).
Grupo de investigación	Investigación farmacológica y desarrollo de fitofármacos - PRECLIN
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Farmacología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020-2021
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

DETERMINACIÓN *in-vivo* DEL EFECTO ANTIPIRÉTICO, ANALGÉSICO Y ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS SEMILLAS DE MORINGA OLEIFERA Lam. EN RATAS HOLTZMAN

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**KATERIN TEVES GUZMAN Y
EDWIN CARLOS LIMAY DE LA CRUZ**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

18 (dieciocho) Aprobado con mención honrosa

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 07 de julio de 2023.


Mg. Luis Alberto Rojas Ríos
Presidente


Dr. Ernesto Raúl Torres Veliz
Miembro


Dr. Oscar Herrera Calderón
Miembro


Mg. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa
Miembro



INFORME DE EVALUACIÓN DE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD

1	Facultad	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
2	Escuela	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
3	Autoridad que emite el informe de originalidad	Director de la Escuela Profesional
4	Apellidos y nombres de la autoridad académica	Luis Miguel V. Felix Veliz
5	Operador del programa informático de similitudes	Luis Miguel V. Felix Veliz
6	Documento evaluado	Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico: DETERMINACIÓN <i>in-vivo</i> DEL EFECTO ANTIPIRÉTICO, ANALGÉSICO Y ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS SEMILLAS DE <i>Moringa oleifera</i> Lam. EN RATAS Holtzman
7	Autor(es) del documento	Br. Limay De La Cruz, Edwin Carlos Br. Teves Guzman, Katerin
8	Fecha de recepción del documento	08/06/2023
9	Fecha de aplicación del programa informático de similitudes	08/06/2023
10	Software utilizado	Turnitin
11	Configuración del programa detector de similitudes	Excluye: - Textos entrecomillados - Bibliografía - Cadenas menores de 40 palabras
12	Porcentaje de similitud según programa detector de similitudes	7 % (El % de similitud debe ser \leq 10%)
13	Fuentes originales de las similitudes encontradas	<ul style="list-style-type: none">• Fuentes de internet varias 8 %• Publicaciones 3 %• Trabajo de estudiantes entregados a otras universidades 3 %
14	Observaciones	Realizar la edición final de la tesis. Procede la sustentación.
15	Calificación de originalidad	Documento cumple con los criterios de originalidad.
16	Fecha del informe	08/06/2023

Nota: se adjunta archivo de reporte del sistema Turnitin en el que se resaltan las similitudes detectadas.



UNMSM

Firmado digitalmente por FELIX
VELIZ Luis Miguel Visitacion FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.06.2023 21:29:28 -05:00

Dr. Luis Miguel V. Felix Veliz

DEDICATORIA

A mi madre, María De la Cruz, quien ha hecho hasta lo imposible por darme un mejor futuro y quien ha sido, a lo largo de toda mi vida, el mejor y más grande ejemplo de perseverancia y trabajo arduo.

A todos mis seres queridos, quienes de una u otra manera han apoyado a que este trabajo fuera concluido, incentivándome a seguir adelante a pesar de los malos momentos que se pudieron haber presentado, dándome el hombro cuando lo he necesitado y colocando su confianza en mí incondicionalmente.

Edwin Carlos Limay De la Cruz

DEDICATORIA

A mi madre, María Elena, por darme ese apoyo incondicional, confianza y amor, e inculcarme el ejemplo de esfuerzo y perseverancia a través de sus consejos.

A mi padre, Luis, por su apoyo constante en las diferentes etapas de mi vida hasta llegar a ser una profesional.

A mis abuelos, Juan y Antonia, quienes me han impulsado a ser mejor cada día y nunca rendirme a pesar de las adversidades.

A mis hermanos, familiares y a todas las personas especiales que me acompañaron en mi formación tanto profesional y personal, dándome su confianza, palabras de aliento y su cariño cuando lo he necesitado.

Katerin Teves Guzman

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestra gratitud a Dios por permitirnos llegar a este momento tan importante de nuestra formación profesional.

Un profundo agradecimiento a nuestro asesor de tesis, el Mag. Francisco Javier Ramírez Cruz, por habernos brindado la oportunidad de recurrir a su experiencia, capacidad y conocimiento científico no solo en la elaboración de este trabajo de investigación, sino también a lo largo de nuestra carrera universitaria.

Gracias por su disponibilidad, su rigurosidad al momento de corregirnos siendo esto clave para mejorar día a día y sobre todo por su paciencia y amistad brindada. Nuestra más sincera admiración y agradecimiento a su persona.

A nuestra querida Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por las oportunidades y conocimientos brindados.

A todas las personas que nos han apoyado incondicionalmente para que este trabajo de investigación se realice con éxito especialmente a los asistentes de la cátedra de farmacología.

A nuestro jurado evaluador por sus correcciones y recomendaciones los cuales nos hicieron mejorar y fortalecer nuestra investigación.

INDICE

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Objetivos.....	2
1.3. Importancia y alcance de la investigación.....	3
1.4. Limitaciones de la investigación.....	4
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
2.1. Marco teórico.....	5
2.2. Antecedentes.....	33
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	36
3.1. Hipótesis.....	36
3.2. Variables.....	36
3.3. Operacionalización de variables.....	37
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
4.1. Área de estudio.....	38
4.2. Diseño de investigación.....	38
4.3. Población y muestra.....	38
4.4. Metodología.....	38
V. RESULTADOS.....	50
5.1. Rendimiento del extracto hidroalcohólico.....	50
5.2. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	50
5.3. Determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	51
5.4. Determinación del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	52
5.5. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	55
5.6. Toxicidad aguda oral DL50.....	58
VI. DISCUSIÓN.....	59
VII. CONCLUSIONES.....	64
VIII. RECOMENDACIONES.....	65
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	66
X. ANEXOS.....	72

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** El proceso de la termorregulación
- Figura 2.** Fisiopatología de la fiebre
- Figura 3.** Ruta ascendente de la transmisión del dolor
- Figura 4.** Estado sensibilizado del APME
- Figura 5.** Escala analgésica (OMS)
- Figura 6.** Resumen de los mecanismos modulares de la vía nociceptiva
- Figura 7.** Mecanismo de acción de los AINEs sobre la ciclooxigenasa (COX)
- Figura 8.** Clasificación de alcaloides en base a estructura química y origen biosintético
- Figura 9.** Estructuras químicas de alcaloides derivados de la ornitina, lisina, fenilalanina y tirosina
- Figura 10.** Estructura química de alcaloides derivados del triptófano y ácido nicotínico
- Figura 11.** Comparación estructural de triterpenos y esteroides
- Figura 12.** Semillas de *Moringa oleifera* Lam.
- Figura 13.** Promedios de tiempo de reacción al dolor vs. tiempo
- Figura 14.** Promedios de las variaciones de porcentaje de volumen vs. tiempo

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Clasificación Taxonómica
- Tabla 2.** Clasificación de la fiebre
- Tabla 3.** Descripción de la operacionalización de variables
- Tabla 4.** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.
- Tabla 5.** Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto antipirético
- Tabla 6.** Volúmenes administrados a cada grupo experimental del efecto antipirético
- Tabla 7.** Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto analgésico
- Tabla 8.** Volúmenes administrados a cada grupo experimental del efecto analgésico
- Tabla 9.** Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto antiinflamatorio
- Tabla 10.** Volúmenes administrados a cada grupo experimental del efecto antiinflamatorio
- Tabla 11.** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.
- Tabla 12.** Valores promedio de las temperaturas (°C) de los tratamientos en el tiempo
- Tabla 13.** Valores promedio del tiempo de reacción al dolor (segundos) de los grupos
- Tabla 14.** Valores promedio de los porcentajes (%) de analgesia de los grupos
- Tabla 15.** Valores promedio del volumen (mL) de los grupos
- Tabla 16.** Valores promedio de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos
- Tabla 17.** Resumen del Test de Irwin
- Tabla 18.** Análisis estadístico (ANOVA y Test de Tukey) de los promedios de temperatura en la determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 19. Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de porcentaje de analgesia en la determinación del efecto analgésico del extracto de hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 20. Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de porcentaje de inhibición de edema en la determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

RESUMEN

La presente investigación es un estudio experimental, prospectivo y transversal, realizado en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM. **Objetivo.** Determinar el efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. **Métodos.** Se preparó un extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. y se realizó la marcha fitoquímica. Asimismo, se realizó la evaluación de los efectos farmacológicos en ratas albinas de cepa Holtzman; para el efecto antipirético se empleó el método de inducción a pirexia por inoculación de suspensión de levadura de cerveza al 15% usando como fármaco patrón Paracetamol. El efecto analgésico se evaluó con el método Hot Plate teniendo como fármaco patrón Tramadol, y el efecto antiinflamatorio se determinó por el método de edema subplantar inducido por λ -carragenina, empleándose un pletismómetro digital PANLAB LE7500, el fármaco patrón fue Diclofenaco. **Resultados.** En la marcha fitoquímica los metabolitos encontrados fueron esteroides, triterpenos, alcaloides, aminoácidos, taninos, azúcares reductores y fenoles. El mayor efecto antipirético se evidenció con la dosis de 400 mg/Kg a las 3 horas, el mayor efecto analgésico se evidenció con la dosis de 400 mg/Kg a los 60 minutos, mientras que el efecto antiinflamatorio se evidenció con la dosis de 25 mg/Kg a los 300 minutos. **Conclusiones.** El extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. demostró tener efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio.

Palabras clave: *Moringa oleifera* Lam., efecto antipirético, efecto analgésico, efecto antiinflamatorio.

ABSTRACT

The present investigation is an experimental, prospective and cross-sectional study, carried out in the Pharmacology laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry-UNMSM. **Objective.** To determine the antipyretic, analgesic and anti-inflammatory effect of the *Moringa oleifera* Lam.'s seeds hydroalcoholic extract. **Methods.** A *Moringa oleifera* Lam.'s seeds hydroalcoholic extract were prepared and the phytochemical march was performed. Likewise, the pharmacological effects were evaluated in Holtzman strain albino rats; for the antipyretic effect, the method of induction to pyrexia by inoculation of 15% brewer's yeast suspension using acetaminophen as the standard drug was used. The analgesic effect was evaluated with the Hot Plate method using Tramadol as the standard drug, and the anti-inflammatory effect was determined by the subplantar edema method induced by λ -carrageenan, using a PANLAB LE7500 digital plethysmometer, the standard drug was Diclofenaco. **Results.** In the phytochemical march, the metabolites found were steroids, triterpenes, alkaloids, amino acids, tannins, reducing sugars and phenols. The greatest antipyretic effect was evidenced with the dose of 400 mg/Kg at 3 hours, the greatest analgesic effect was evidenced with the dose of 400 mg/Kg at 60 minutes, while the anti-inflammatory effect was evidenced with the dose of 25 mg/Kg at 300 minutes. **Conclusions.** The *Moringa oleifera* Lam.'s seeds hydroalcoholic extract showed antipyretic, analgesic and anti-inflammatory effects.

Key words: *Moringa oleifera* Lam., antipyretic effect, analgesic effect, anti-inflammatory effect.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

El Perú es catalogado como uno de los países con una gran biodiversidad, con una riqueza de plantas originarias y adaptadas de diferentes partes del mundo; existe un gran número de las cuales no se ha evidenciado científicamente los beneficios para la salud que podrían proveer pero que son muy utilizadas por la población¹.

El uso frecuente de la planta *Moringa oleifera* Lam., por la población en el Perú, sigue en crecimiento notorio y su uso está destinado a muchas enfermedades y dolencias presentes en la actualidad; entre ellas se puede encontrar afecciones dolorosas, febriles, inflamatorias, entre otros.

La inflamación es una respuesta natural del organismo a diferentes agresiones endógenas o exógenas, mientras que el dolor es un mecanismo de defensa, detectando y localizando los procesos que dañan las estructuras corporales, como también puede no estar vinculado a una patología orgánica o lesión. Tanto la inflamación, el dolor y fiebre son los motivos más frecuentes de consulta médica como también de solicitud de medicamentos sin prescripción médica^{2,3}.

1.1.1. Formulación del problema

¿El extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam. posee efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio in vivo en ratas Holtzman?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar *in-vivo* el efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Obtener el extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. y realizar el análisis fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam.
2. Determinar el efecto antipirético *in-vivo* del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.
3. Determinar el efecto analgésico *in-vivo* del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.
4. Determinar el efecto antiinflamatorio *in-vivo* del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.
5. Determinar la toxicidad aguda oral (estimación de la DL50.)

1.3. Importancia y alcance de la investigación

En nuestro país hay una población que no es ajena al uso elevado de medicamentos, ya sea prescritos o no prescritos (automedicación), con efectos antipirético, analgésico y/o antiinflamatorio. Sin embargo, la automedicación con estos fármacos presenta porcentajes muy altos, por encima de medicamentos utilizados en enfermedades gastrointestinales y antibióticos^{4,5}; cabe recalcar que esto no es exclusivo de la ciudad de Lima ya que también se ha observado un comportamiento similar en provincias de todo el Perú^{6,7}. Debido a lo expuesto, este estudio tiene como finalidad comprobar si el extracto hidroalcohólico de las semillas de la planta *Moringa oleifera* Lam. posee estos efectos; y de esta manera contribuir delimitando que beneficios para la salud posee esta especie vegetal, y evitar un uso indiscriminado en cualquier tipo de afección o dolencia que se presente en cualquier momento. Por estas razones consideramos que el presente trabajo beneficiará a la población en general, además de que será un aporte en el ámbito de la ciencia, especialmente en áreas como la etnofarmacología, fitoterapia, entre otras. Cabe destacar que los resultados de nuestra investigación a nivel preclínico podrán orientar a ampliar los estudios en el área clínica sobre esta especie.

1.4. Limitaciones de la investigación

La especie en investigación cuenta con un gran volumen de investigaciones para la evaluación de los efectos terapéuticos en distintas partes de la especie; sin embargo, el presente trabajo se enfoca en las semillas de la especie, para lo cual la búsqueda de la literatura se vio limitada por la poca cantidad de estudios enfocados en esta parte de la planta y con un enfoque a evaluar especialmente la actividad antipirética.

El presente trabajo fue desarrollado durante la situación actual de la pandemia COVID-19, situación que trajo como limitaciones, entre otras eventualidades, una demora en el desarrollo de los ensayos debido a que no se podía acceder a las instalaciones del laboratorio donde se llevaron a cabo estos ensayos.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Marco teórico

2.1.1. *Moringa oleifera* Lam.

2.1.1.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica fue realizada por el biólogo Campos De La Cruz José, quien nos emitió la constancia respectiva (Anexo 1). Según el sistema de clasificación APG-2016, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Tabla 1. Clasificación Taxonómica

CLASIFICACIÓN	
División	Angiospermae
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Rosanae
Orden	Brassicales
Familia	Moringaceae
Género	<i>Moringa</i>
Especie	<i>Moringa oleifera</i> Lam.

2.1.1.2. Descripción morfológica

Moringa oleifera es un árbol que durante el primer año tiene un crecimiento muy rápido; puede llegar a medir entre 10 a 12 metros, su copa es densa tipo acacia y su tronco puede ser único o múltiple⁸.

Las hojas son bipinnadas o generalmente tripinnadas, llegando a medir hasta 45 cm de largo y sus hojas están compuestas con folículos de 1 – 2 cm del largo⁹.

Las flores son de color blanco amarillentas, bisexuales, de aproximadamente 0.7 a 1 cm de largo y 2 de ancho⁹.

Los frutos son cápsulas trilobuladas y se denominan vainas, maduras de color marrón y verdes cuando son inmaduras. Cuando la vaina se seca

llega a medir 30 – 120 cm de largo, 1.8 cm de ancho y la producción de frutos es en marzo y abril. La fruta contiene 26 semillas⁹.

Las semillas son redondas de 1 cm de diámetro, la cáscara es de color pardo mientras que las semillas son de color marrón a negro, pero pueden ser blancas si los granos son de baja viabilidad. El árbol puede producir entre 15000 y 25000 semillas al año y el peso promedio es de 0.3 g/semilla⁹.

2.1.1.3. Distribución geográfica

Moringa oleifera Lam. es originaria de la India, distribuida en países como Asia, Oriente Medio, África, América Central y América del Sur¹⁰.

Crece en climas tropicales con suelos arcillosos y arenosos, en una altitud menor a 2000 m.s.n.m.¹¹, y una temperatura media entre 12.6 °C y 40.0 °C, llegando a soportar temperaturas máximas de 48 °C y -1 °C como mínimo. Es capaz de resistir sequías siendo cultivable en zonas áridas y semiáridas¹².

2.1.1.4. Composición química

Estudios realizados a diferentes partes de la planta (*Moringa oleifera* Lam.) indican ser una fuente de glucosinolatos, que se encuentran en las hojas y semillas; el glucosinolato de bencilo ocupa un lugar destacado en las raíces y otros metabolitos secundarios son los taninos, saponinas, ácidos fenólicos, ácidos grasos insaturados, tocoferoles, minerales, folatos, alcaloides, esteroides, glucoesteroides, isotiocianatos y flavonoides (campferol, quercetina, mirecetina, isomnetina, glucósidos de campferol y rutinósidos)¹³.

Los exudados de goma refinada contienen galactosa, ácido glucurónico, arabinosa, manosa, ramnosa y xilosa¹³.

2.1.1.5. Usos en la medicina tradicional

Cada parte de la planta de *Moringa oleifera* Lam. se usa tradicionalmente para diversos propósitos; generalmente se consume como infusiones para el tratamiento de la fiebre tifoidea, como antiparasitario, antibacteriano,

antihipertensivo, hipoglicemiante, contra los dolores de estómagos y úlceras, dolor de articulaciones, dolor de muela, anemia, para el tratamiento de la inflamación, enfermedades musculares y antiparalítico¹⁴.

2.1.2. Fiebre

2.1.2.1. Definición

La fiebre es la elevación regulada de la temperatura corporal por encima de los valores normales (> 37.5 °C en la cavidad oral) debido a la reprogramación de los centros termorreguladores hipotalámicos mediada por citocinas, en respuesta a un estímulo pirógeno (capaz de producir calor) exógeno¹⁵.

2.1.2.2. Fisiopatología

2.1.2.2.1. Centro de termorregulación

El centro termorregulador se localiza en la región hipotalámica anterior preóptica (POAH), esta contiene numerosas neuronas sensitivas al aumento de la temperatura sanguínea. Muchas de estas células sensibles al calor también responden a la temperatura de la piel¹⁶.

El cuerpo siempre está generando calor que se obtiene de reacciones bioquímicas (por ejemplo, el catabolismo de la glucosa), incluso cuando no realiza ningún trabajo externo, está realizando trabajo interno como la peristalsis, la circulación de la sangre, etc¹⁷.

La regulación de la temperatura corporal, como la de los otros sistemas, requiere de un sistema aferente, un centro control y un sistema eferente¹⁸.

La señalización aferente va a recoger la información térmica según los cambios de temperatura y la va a dirigir a través del tronco del encéfalo, la médula espinal y los ganglios linfáticos hacia las neuronas sensibles al calor en el área preóptica del hipotálamo¹⁷.

Una vez que a estas neuronas les llega la información central y periférica, generan señales por la vía eferente mediada por el hipotálamo, el tronco encefálico y la médula espinal que terminará en

respuestas efectoras como los escalofríos, termogénesis por el tejido adiposo pardo, vasoconstricción, vasodilatación y cambios conductuales¹⁷.

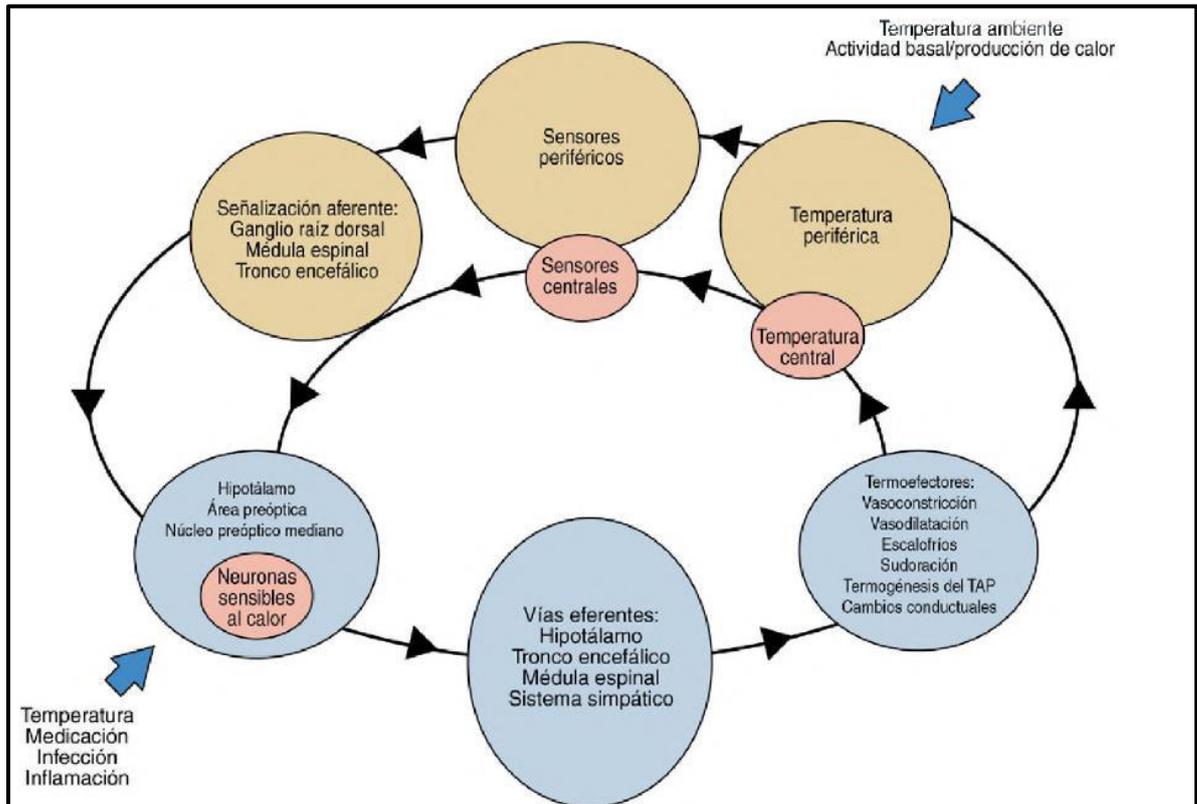


Figura 1. El proceso de la termorregulación

Fuente: Bennet J., Dolin R., Blaser M. (2016)¹⁷.

2.1.2.2.2. Citocinas pirógenas

La respuesta febril se pone en marcha cuando hay presencia de agentes externos al huésped (pirógenos exógenos), como son las endotoxinas y exotoxinas bacterianas, o las que derivan de las células del huésped a las cuales se les denomina pirógenos endógenos (citocinas pirógenas). La fiebre resulta de una combinación de ambos, además de la respuesta inmunitaria innata que aumenta la producción de citocinas pirógenas¹⁷. Las citocinas IL- α , IL-1beta, TNF α , IFN α e IL-6 producen fiebre por acción directa hipotalámica sin requerir la formación de otras citocinas. IL-6 es miembro de una familia de citoquinas que incluye IL-11,

oncostatina M, factor neutrófico ciliar (CNTF), cardiotropina-1 y factor inhibidor leucémico (LIF). Todos los componentes de esta familia utilizan el receptor gp130 y, por lo tanto, son pirógenos¹⁸. Estas moléculas una vez liberadas, pueden inducir la expresión de otras similares (cascadas de citocinas), así como la de sus propios receptores¹⁵.

Cabe señalar que, generalmente, las infecciones pueden activar la producción de citocinas, pero estas citocinas pirógenas también pueden producirse en respuesta a estados no infecciosos como la gota o la muerte celular^{17,19}.

2.1.2.3. Mecanismo de producción de pirexia

Las citocinas pirógenas circulantes establecen la comunicación biológica entre el sistema inmune y el sistema nervioso central (SNC) atravesando la barrera hematoencefálica. Al ser reconocidas por las células endoteliales del órgano vasculosum de la lámina terminalis (redes de grandes capilares que rodean a los centros termorreguladores hipotalámicos) inducen, a través de la expresión de la enzima ciclooxigenasa 2, la producción de mediadores lipídicos, las prostaglandinas (PG). Los niveles tisulares de PGE₂, que normalmente son indetectables en el cerebro, durante la fiebre están elevados en el tejido hipotalámico y en el III ventrículo. Algunas toxinas microbianas pueden estimular en forma directa la producción de PGE₂ hipotalámica, prescindiendo de las citocinas. La PGE₂, a su vez, estimula a las células gliales que liberan AMP cíclico. Este neurotransmisor determina que las neuronas del termostato hipotalámico, por disminución de la activación de las neuronas sensibles al frío, estimulen los mecanismos de termogénesis y regulen la temperatura corporal a un nivel más elevado que el normal produciendo fiebre¹⁵.

Se puede generar fiebre por un mecanismo neural diferente, en el cual una señalización a través del nervio vago aumenta la producción de noradrenalina en el área preóptica, que inhibe a las neuronas sensibles al calor y activa la producción local de PGE₂¹⁷.

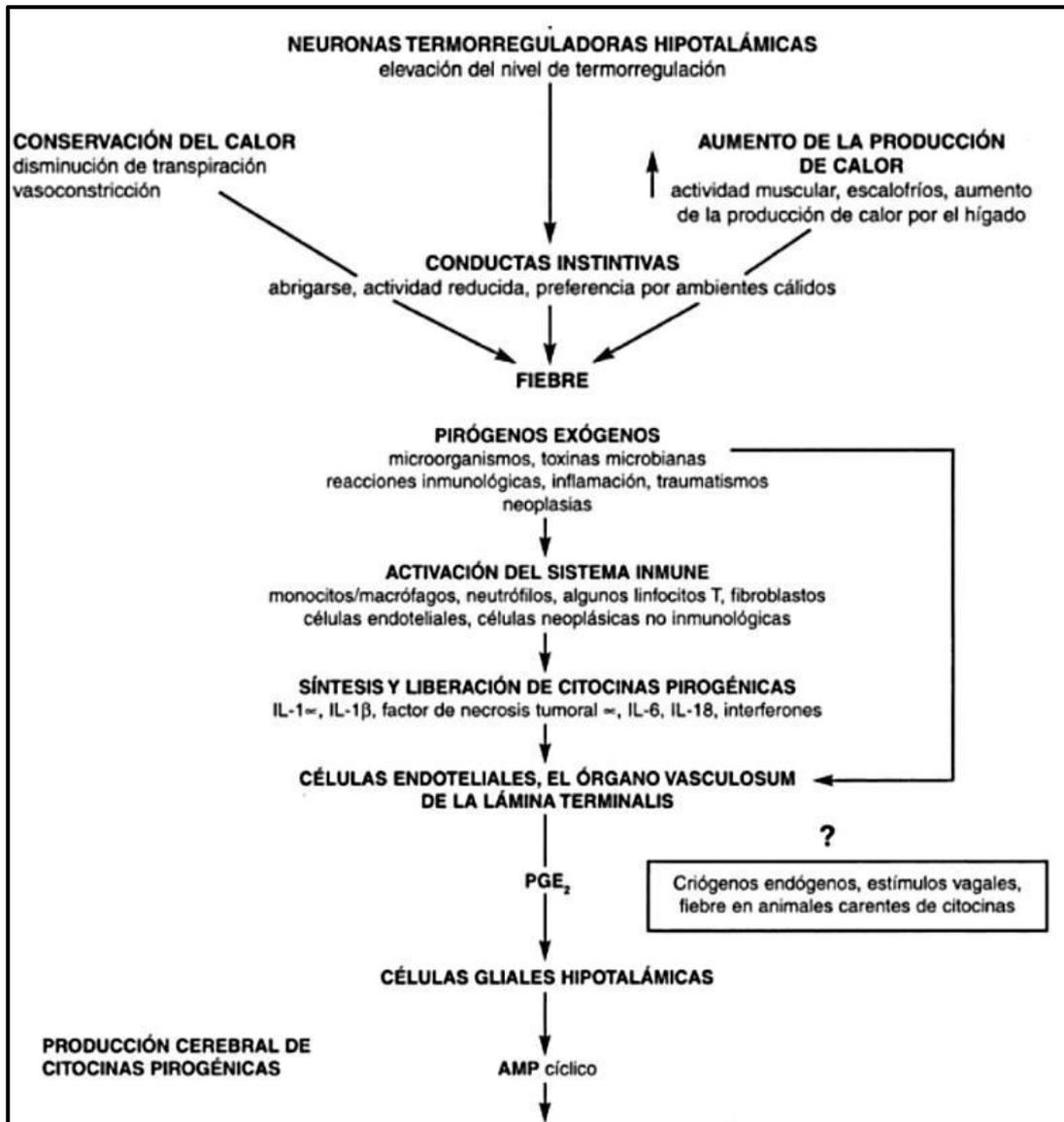


Figura 2. Fisiopatología de la fiebre

Fuente: Argente H. Álvarez M. (2005) ¹⁵.

2.1.2.4. Clasificación

De acuerdo con sus características la fiebre se puede clasificar de la siguiente manera:

Tabla 2. Clasificación de la fiebre¹⁵.

TIPOS	DEFINICIÓN
Fiebre intermitente, hética o séptica	Caracterizada por elevaciones térmicas que retornan a los valores normales, durante cada día de fiebre. Se observa en enfermedades bacterianas, TBC miliar y linfomas.
Fiebre continua o sostenida	No presenta variaciones mayores de 0.6 °C por día.
Fiebre remitente	No baja a valores normales durante cada día de fiebre.
Fiebre periódica	Aparece con intervalos fijos y predecibles.
Fiebre recurrente	Aparecen después de uno o más días de apirexia; puede tener un patrón intermitente, continuo o remitente.

2.1.2.5. Tratamiento de la pirexia

2.1.2.5.1. Mecanismo de acción antipirético

“La fiebre es una respuesta autónoma, neuroendocrina y conductual compleja y coordinada que se desencadena ante la existencia de una infección, lesión tisular, inflamación, rechazo de tejidos, tumores, etc., y sirve a una doble finalidad: alertar acerca de una situación anómala y potencialmente lesiva, y poner en marcha una serie de mecanismos fisiológicos para la defensa del organismo”²⁰. Se manifiesta como un aumento de temperatura de 1 °C a 4 °C, con adaptaciones fisiológicas y no necesariamente requiere tratamiento²⁰.

La homeostasia térmica va a ser conservada dependiendo de los mecanismos de producción y conservación del calor; y aquellos implicados en su disipación, entre ellos los criógenos endógenos con capacidad, en ciertas condiciones fisiológicas, de prevenir o disminuir la fiebre. La estimulación por pirógenos endógenos suele depender de señales vagales desde la periferia hasta el núcleo del tracto solitario, desde donde alcanza el área preóptica a través del canal noradrenérgico ventral. La liberación de noradrenalina intrapreóptica evoca al aumento de temperatura en dos fases:

- La primera la cual es rápida y se realiza mediante los receptores alfa 2 y no dependen de la PGE₂,
- La segunda es más diferida, se realiza mediante receptores y dependen de la COX-2 /PGE₂^{17,20}.

Las endotoxinas de las bacterias van a estimular la generación de las prostaglandinas tipo E, mediante propagación de la IL-1 en los macrófagos, elevando el punto de ajuste del hipotálamo para el control de la temperatura. Los AINEs ejercen su acción antipirética por la disminución de la concentración de prostaglandinas a nivel central, esta es llevada a cabo a nivel de la COX-2 (actividad enzimática) la cual es inhibida de manera directa ²¹.

El paracetamol es la excepción al mecanismo de acción de los AINEs, ya que tiene una ligera actividad sobre la COX – 1 y la COX – 2, sin embargo, es capaz de obtener la reducción de la síntesis de prostaglandinas a bajas concentración de peróxidos, por ejemplo, aliviando el dolor y la fiebre en el cerebro. En este contexto ha llamado la atención la sorprendente similitud estructural del paracetamol y la N-ara-quidonilfenolamina de ácidos grasos (AM404), un potente estimulante de receptores vanilloides V1 e inhibidor del recaptador del cannabinoide endógeno, anandamida, lo que produce un aumento de los endocannabinoides. El paracetamol, en el cerebro y la médula espinal, pasa por dos procesos químicos: la primera es una acetilación a p-aminofenol y, la segunda, una conjugación con ácido araquidónico, la que concluye en la síntesis de AM404. El metabolito activo (AM404) es el producto de un precursor al cual llamamos profármaco, el cual en este caso es el paracetamol, este metabolito activo estimula de manera directa los receptores CB1 y V1²².

Adicionalmente, aunque no se utilizan con frecuencia para bajar la fiebre, los corticoides pueden suprimir la fiebre por bloqueo de la transcripción de citocinas pirógenas mediante interacción con el receptor de glucocorticoides e inhibición de manera secundaria de la

producción de fosfolipasa A₂, enzima fundamental en la síntesis de prostaglandinas¹⁷.

2.1.2.5.2. Fármacos antipiréticos y AINEs

a) Derivados del ácido salicílico

Ácido acetilsalicílico: los salicilatos disminuyen de manera rápida y eficaz la fiebre, pero pueden incrementar el consumo de oxígeno y el metabolismo. En dosis tóxicas producen un efecto pirético que ocasiona sudoración y deshidratación²².

b) Derivados del para-aminofenol

Paracetamol: se considera tratamiento de elección como antipirético y analgésico frente a otros AINE y, en especial, a la aspirina, ya que no presenta muchos de los efectos adversos que estos producen²².

c) Derivados de las pirazonas

Metamizol, propifenazona, fenilbutazona: se usan como antitérmicos y analgésicos. El metamizol es menos gastrolesivo que la aspirina y no produce hemorragias ya que, aunque inhibe las COX como los otros AINE, el tipo de inhibición es competitiva, no irreversible como de la aspirina²².

d) Derivados del ácido propiónico

Son un conjunto de fármacos que intervienen en procesos como la inflamación, dolor, fiebre y en la agregación plaquetaria. Destacan entre otros: ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, dexibuprofeno y dexketoprofeno²².

2.1.3. Dolor

2.1.3.1. Definición

El dolor es un mecanismo esencial de señal temprana que nos alerta de la presencia de estímulos lesivos en el entorno²³.

Según la International Association for the Study of Pain, IASP, “el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable, que se asocia a daño tisular real o potencial, o que se describe en los términos de dicho daño”^{24,25}.

El dolor, ya sea moderado o intenso, conlleva a la ansiedad y el deseo de eludir o suprimir esa sensación. Es por estas características que se habla de la dualidad del dolor, que es tanto una sensación como una emoción²⁵.

2.1.3.2. Fisiopatología del dolor

La lesión tisular activa los receptores del dolor denominados nociceptores, que transmiten el estímulo doloroso a la asta dorsal de la medula espinal a través de fibras nerviosas aferentes²³. Los nociceptores son terminaciones nerviosas libres de las fibras nerviosas A δ y C, que se pueden excitar por estímulos nocivos. Son abundantes en la piel, pero también están presentes en los músculos, el periostio, las vísceras huecas, las cápsulas de órganos internos y los vasos sanguíneos. Los nociceptores expresan receptores y canales iónicos que se pueden activar por diversos estímulos (térmicos, mecánicos y químicos) y mediadores (bradicinina, serotonina, histamina, capsaicina, etc.). La mayoría de los nociceptores son polimodales; es decir, se activan por varios tipos diferentes de estímulos¹⁵. Al aplicar estímulos intensos, repetidos o prolongados en un tejido lesionado, provoca que el umbral de excitación de los nociceptores disminuya y que la frecuencia de descarga aumenta cualquiera que sea la intensidad del estímulo; son los mediadores de la inflamación (bradicinina, algunas prostaglandinas, etc.) que contribuyen a este proceso conocido como sensibilización²⁵.

2.1.3.3. Transmisión del estímulo

En el nervio periférico se encuentran fibras de distintas características estructurales y funcionales que se clasifican según su grosor, su cubierta de mielina y su velocidad de conducción.

Las fibras mielínicas A son las de mayor grosor y las de más alta velocidad de conducción. En ellas existen subtipos: las fibras A α , que se activan ante

estímulos táctiles o con movimientos suaves de los receptores, y las fibras A δ que participan en la transmisión del dolor agudo y punzante, de localización precisa y de comienzo y finalización rápidos en relación con la duración de la aplicación de la noxa²⁴.

Las fibras amielínicas o "C" son más delgadas y menor conducción, predominan en la inervación dolorosa visceral²⁵, origina un dolor de carácter urente, que comienza mucho después de la aplicación del estímulo y a veces que este ha cesado¹⁵.

Además, las fibras A δ y C son responsables de la transmisión del dolor, las fibras A δ también pueden participar en la transmisión del dolor crónico. Las fibras aferentes primarias mielínicas gruesas, fibras A δ , transmiten la información referente a los estímulos inocuos de tipo mecánico a lamina profundas (III-VI) de Resed²⁴.

2.1.3.4. Procesamiento y transmisión del dolor en la medula espinal

Los estímulos dolorosos se transmiten a las segundas neuronas de la medula espinal. En cada unión o sinapsis se puede modular el estímulo, que es la capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión de impulso nervioso, fundamentalmente inhibiendo en las astas posteriores de la medula; al mismo tiempo se activan circuitos reflejos sinápticos produciendo vasoconstricción en el área lesionada²⁴.

Las fibras A δ y C, que conducen el dolor, llegan a la medula espinal a través de la raíz dorsal, y se produce la transmisión de la información a la segunda neurona. Desde la asta posterior de la medula espinal (APME) el impulso nervioso puede ser transmitido por una serie de tractos ascendentes que son:

- El haz espinohipotalámico: que se proyecta hacia el hipotálamo, implicando en funciones automáticas, permite las respuestas reflejas autonómicas al estímulo doloroso.
- El haz espinoreticular, que conduce los componentes emotivos y afectivos del dolor. Sus fibras se transmiten al tálamo lateral y desde ahí al sistema límbico y a la corteza frontal, vinculándose con sufrimiento y ejerce control potente sobre el comportamiento^{24,25}.

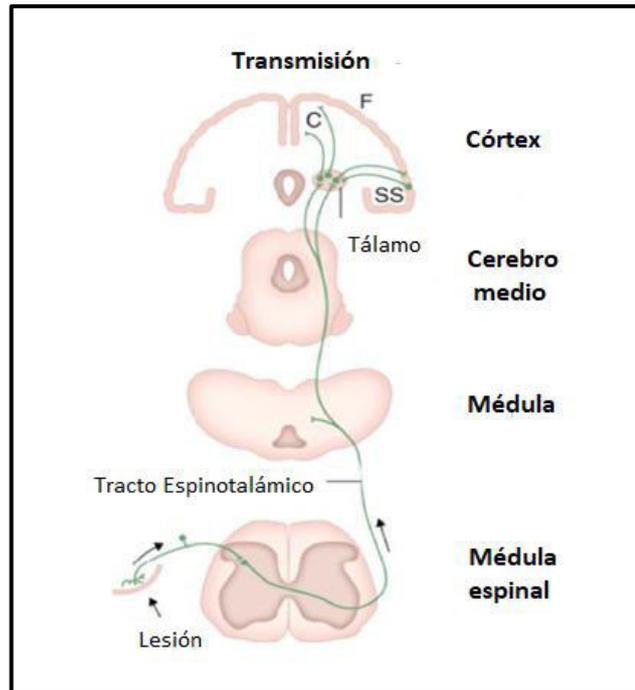


Figura 3. Ruta ascendente de la transmisión del dolor.
Fuente: Toro V. (2009)²³.

Algunos neurotransmisores excitatorios son la sustancia P, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la neurocinina A y el glutamato²⁴.

El bloqueo de la sustancia P, que actúa sobre receptores NK1 específicos a nivel medular, no indujo analgesia, pero redujo en un 50% la hiperalgesia inducida por la inflamación periférica experimental. El glutamato es un aminoácido excitatorio principalmente responsable del inicio y mantenimiento de la hiperalgesia. Múltiples receptores para el glutamato se encuentran en el sistema nervioso central y periférico: los dependientes de ligandos acoplados a proteína G; en esta situación el glutamato es liberado en la hendidura sináptica, se une a los receptores NMDA y abre el canal de Ca^{++} de las neuronas postsinápticas; entre otras funciones, el Ca^{++} activa la proteína C y la NO sintasa, que genera óxido nítrico (NO) a partir de la arginina, que a su vez activa la guanilato ciclasa soluble. Tanto el glutamato como el NO producido actúan sobre los autorreceptores presinápticos, que

a su vez aumentan la liberación de glutamato y sustancia P, completando el proceso de facilitación, ampliación y perpetuación de la respuesta^{15,26}.

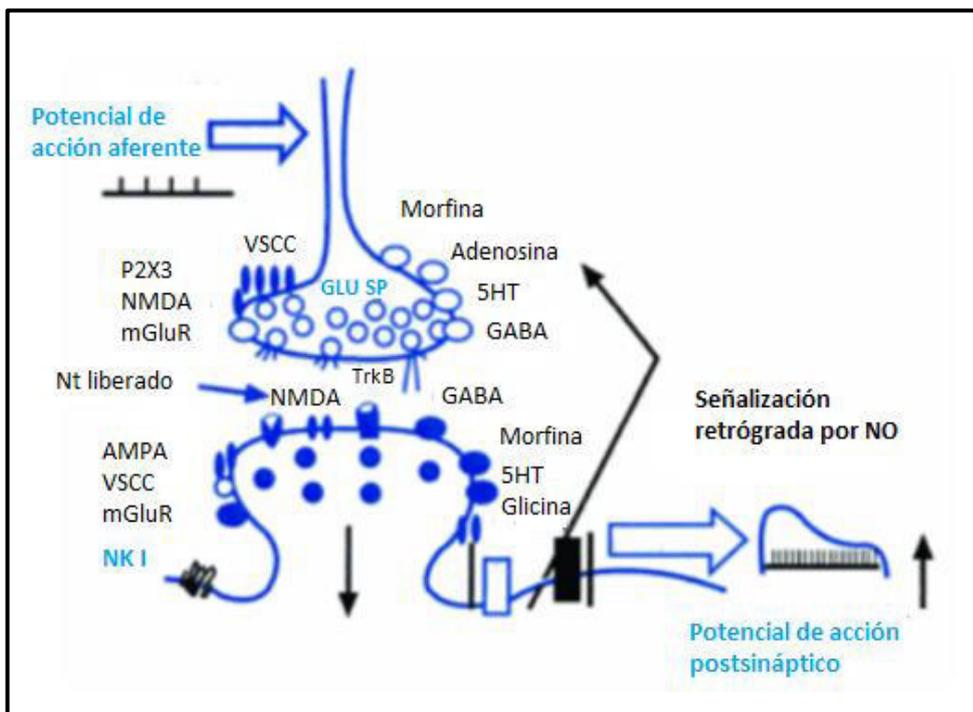


Figura 4. Estado sensibilizado del APME.
Fuente: Villoria M. (2007)²⁶.

2.1.3.5. Clasificación del dolor

a. Según su temporalidad

- Agudo: dolor que se produce tras una lesión tisular provocada por un estímulo nociceptivo. Es temporal y desaparece o disminuye al cesar la causa que lo originó²⁴.
- Crónico: dolor presente por más de tres meses de evolución que persiste a pesar de que la lesión haya sido resuelta.

b. Según su fisiología

- Dolor nociceptivo: Es el mecanismo más común de dolor agudo causado por la estimulación de los nociceptores periféricos, profundos, transmitiéndose por las vías nerviosas específicas del dolor hasta alcanzar el tálamo y la corteza cerebral²⁵.
- Dolor somático: es un dolor transmitido por el sistema nervioso periférico, puede ser a su vez superficial, se origina en la piel o en

las mucosas o bien profundo, en los músculos, huesos y articulaciones²⁵.

- Dolor visceral: es un dolor profundo, mal localizado y cuya transmisión se produce a través de fibras vegetativas, preferentemente del sistema simpático²⁵.
- Dolor neuropático: dolor patológico y con origen neurofisiológico desconocido, es la causa más importante de dolor crónico, además de que es bastante resistente a los tratamientos habituales del dolor. Aparece como resultado de una lesión o disfunción del sistema nervioso central o periférico donde se alteran los mecanismos de control o modulación de las vías de transmisión nociceptiva²⁵.

2.1.3.6. Tratamiento del dolor

Es importante una correcta clasificación del dolor para instaurar tratamientos farmacológicos eficaces por lo cual muchos médicos se rigen por la escala terapéutica de la Organización Mundial de la Salud (OMS), basando sus decisiones principalmente en la intensidad del dolor²⁷.



Figura 5. Escala analgésica (OMS)²⁷.

Los analgésicos constituyen la primera línea de la terapéutica en el tratamiento del dolor; entre los principales fármacos para aliviar el dolor, se considera a los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y

analgésicos opioides, que se pueden clasificar en agonistas (morfina) y agonistas – antagonistas (nalbupina). Además, se dispone de fármacos coadyuvantes de la analgesia, entre ellos los antidepresivos tricíclicos y algunos anticonvulsivantes^{20,25,28}.

2.1.3.6.1. AINEs

La actividad analgésica de los AINE es de intensidad moderada o media; alcanzan un techo analgésico claramente inferior al de los opioides, pero, frente a estos, presentan como ventaja que no alteran el sensorio o la percepción. Son útiles en dolores articulares, musculares, dentarios y cefaleas de diversa etiología, incluidas las formas moderadas de migraña, entre otros. A dosis suficientemente elevadas son también eficaces en dolores postoperatorios y postraumáticos, ciertos cólicos y dolores de origen canceroso en sus primeras etapas. Los AINEs no alteran los umbrales de percepción del dolor nociceptivo, es decir, aquel que nos permite reaccionar rápidamente frente a un estímulo lesivo agudo, sin embargo, son especialmente indicados en ciertos dolores caracterizados por una participación destacada de las PG²⁰.

2.1.3.6.2. Opioides

El efecto analgésico de los opiáceos es de intensidad moderada a severa, se produce a través de su acción sobre el sistema nervioso central donde encontramos los receptores diana (μ , k , δ), que además pueden encontrarse en otros órganos²¹.

- a. **Agonistas puros:** preferentemente agonistas; con afinidad sobre receptores μ , mostrando mayor actividad intrínseca. Los fármacos de este grupo son: heroína, morfina, petidina, oxicodona, metadona, tramadol, fentanilo y remifentanilo.
- b. **Agonistas-antagonistas mixtos:** con afinidad sobre los receptores μ y k . En el receptor k se comportan como agonistas mientras que sobre el μ lo hacen como agonistas parciales o antagonistas.
- c. **Agonistas parciales:** Son selectivos sobre receptores μ , con baja actividad intrínseca en comparación a los agonistas puros, de ahí

que en presencia de un agonista puro puedan comportarse también como antagonistas. Pertenece a este grupo la buprenorfina.

- d. **Antagonistas puros:** poseen afinidad en los receptores μ , k y δ ; sin actividad intrínseca sin embargo pueden interferir con la acción de un agonista. Los fármacos de este grupo son la naltrexona y naloxona ²¹.

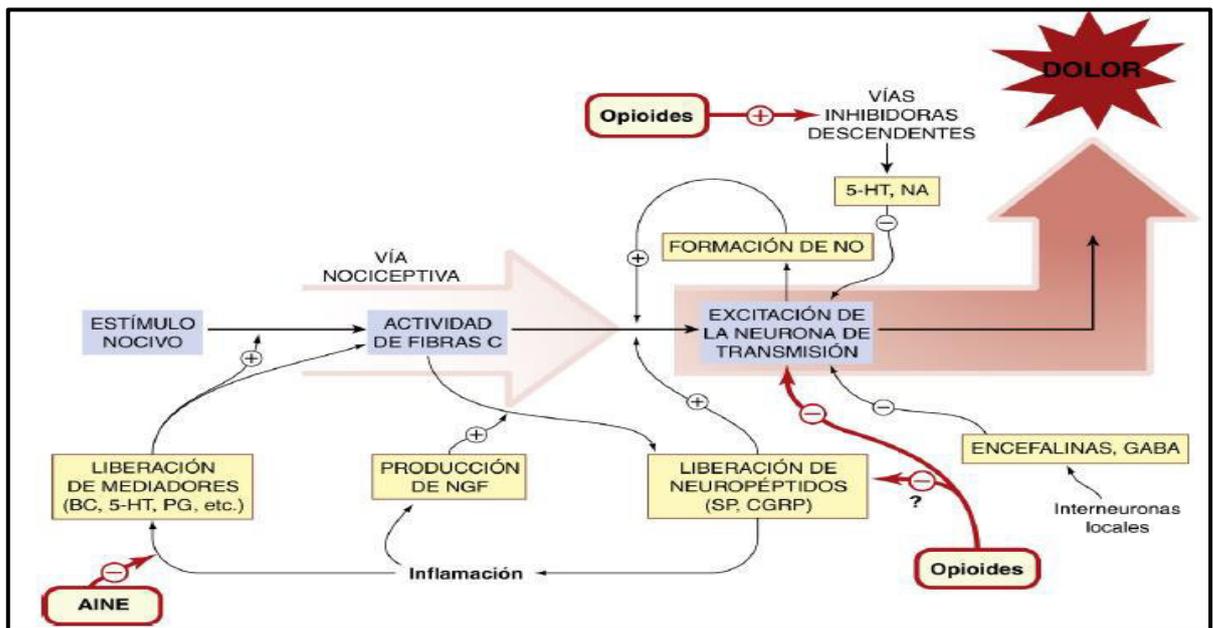


Figura 6. Resumen de los mecanismos moduladores de la vía nociceptiva. AINE, antiinflamatorios no esteroideos; BC, bradicinina; CGRP, péptido relacionado con el gen de la calcitonina; GABA, ácido g-aminobutírico; 5-HT, 5-hidroxitriptamina; NA, noradrenalina; NGF, factor de crecimiento nervioso; NO, óxido nítrico; PG, prostaglandinas; SP, sustancia P.

Fuente: Rang H. et al. (2016) ²¹.

2.1.4. Inflamación

2.1.4.1. Definición

El proceso inflamatorio es la respuesta protectora del sistema inmune a un estímulo perjudicial. Puede ser provocada por agentes nocivos, infecciones y lesiones físicas, que liberan moléculas asociadas a daños y patógenos que se reconocen por células encargadas de la vigilancia inmune²⁹.

2.1.4.2. Respuesta inflamatoria y mediadores

La inflamación aguda es una respuesta natural, relativamente breve, de carácter protector, que pretende librar al organismo de la causa inicial de la lesión celular y de las consecuencias que esta provoca. Luego de una lesión celular, comienza una cascada compleja de interacciones bioquímicas y celulares, mediadas por la actividad de múltiples agentes químicos, muchas moléculas intervienen en la promoción y resolución del proceso inflamatorio, como histamina, bradicinina, 5HT, prostanoideos, LT, PAF y una serie de citocinas, que provocan cambios en la microvasculatura, el aumento de leucocitos en la zona de lesión, y finalmente los signos de la respuesta inflamatoria aguda^{29,30}.

2.1.4.2.1. Cascada de coagulación y la inflamación

Los componentes que actúan como enlace entre la coagulación e inflamación son los siguientes:

- a. Trombina:** Se obtiene como resultado de la activación del precursor, la protrombina, que escinde la molécula de fibrinógeno para formar cadenas de fibrina, que dan lugar a la formación de coágulos insolubles. Durante esta transformación se producen fibrinopéptidos que provocan un aumento de la permeabilidad vascular y estimulan la actividad quimiotáctica de los leucocitos. La trombina también provoca un aumento en la adhesión de leucocitos y la proliferación de fibroblastos.

b. Factor Xa: el factor X, es una proteasa que junto, con el cofactor Va y los fosfolípidos de membrana, forma el complejo protrombinasas y, por lo tanto, activa a la trombina. Es el primer factor en la vía común final en modelos antiguos de hemostasia, con dos fuentes potenciales de activación: el complejo factor VIIa/FT y el complejo IXa/VIIIa. Esta proteasa de la coagulación, actúa como un mediador de la RIA al unirse a los receptores efectores de la proteasa celular-1, causando un aumento de la permeabilidad vascular y de la exudación leucocitaria³⁰.

2.1.4.2.2. Componentes de sistema del complemento

“El sistema del complemento (C) son producidas por el hígado y el sistema fagocito mononuclear, actúa en los procesos inmunes inespecíficos (RIA) y adaptativos de defensa frente a microorganismos. Tiene como objeto la lisis a través del complejo de ataque de membrana (MAC). Los factores derivados de las reacciones del sistema del complemento afectan a diversos procesos de la inflamación, y entre estos a la quimiotaxis; un ejemplo es el producto C5a, que es un potente agente quimiotáctico para neutrófilos (en la RIA), monocitos, eosinófilos y basófilos, y además incrementa la adhesión de leucocitos al endotelio mediante la activación de los propios leucocitos y el aumento de la intensidad de unión de las integrinas de superficie a su ligador endotelial. El complemento puede ser activado por dos vías: la vía clásica y la alternativa; la primera comienza con la fragmentación del C3 (proteína del sistema de complemento) mediada por la unión de un complejo antígeno-anticuerpo al C1 (proteína del Complemento); la vía alternativa consiste en la activación del C3 directamente por las superficies de microorganismos, polisacáridos complejos y endotoxinas, aunque mediado por un grupo específico de componentes séricos denominado sistema de properdina”³⁰.

2.1.4.2.3. Prostaglandinas y leucotrienos

Se producen cuando las enzimas actúan sobre el ácido araquidónico, un ácido graso que es un componente principal de las membranas celulares. Las prostaglandinas son compuestos que tienen funciones biológicas, una de ellas es la prostaglandina E, que se produce durante la inflamación, causando una vasodilatación capilar de larga duración y un aumento de la sensibilidad de los receptores del dolor a la histamina y la bradiquinina. Los leucotrienos hacen que se incremente la permeabilidad capilar y atraen a los leucocitos al lugar donde se produce la inflamación^{30,31}.

2.1.4.2.4. Las citoquinas

Las citoquinas son sintetizadas durante la respuesta inflamatoria, desempeñan un papel esencial en la organización del proceso inflamatorio, en especial TNF e IL-1, pueden tener un efecto citotóxico y estimulan a neutrófilos, macrófagos y linfocitos T y B por lo que amplifican la respuesta inflamatoria. Por el contrario, otras citoquinas como IL-13 tiene efecto antiinflamatorio.

Los efectos sistémicos de citoquinas en la respuesta de fase aguda son glucogenólisis, lipólisis, proteólisis, el hipermetabolismo con aumento de la temperatura corporal, acidosis metabólica y síntesis de proteínas de la fase aguda^{30,31}.

2.1.4.2.5. Quimiocinas

Las quimiocinas son factores quimiotácticos de bajo peso molecular, algunas de ellas son proinflamatorias Su acción está relacionada con el reclutamiento de células inflamatorias en el sitio de la agresión. Las quimiocinas para neutrófilos pertenecen a la familia CXC y son IL-8, GCP-2, NAP-2, ENA-78; las que atraen monocitos y macrófagos son de la familia CC como MCP-1, MIP-1 α y MIP - 1 β , la eotaxina, también atrae eosinófilos y linfocitos TH2³¹.

2.1.4.3. Fármacos antiinflamatorios

2.1.4.3.1. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos

a. Mecanismo de acción

- **Inhibición de la ciclooxigenasa**

Los principales efectos terapéuticos de los AINES derivan de su capacidad inhibir la producción de prostaglandina (PG). La primera enzima en la vía de síntesis de la prostaglandina es la COX, esta enzima convierte aminoácidos (AA) en los intermediarios inestables PGG₂ y PGH₂ y conduce a la formación de los prostanoideos, tromboxano A₂ (TxA₂) y una variedad de PG. La COX-1, se expresa constitutivamente en la mayoría de las células, es una fuente relevante de prostanoideos para funciones de mantenimiento, como la hemostasia tisular. Por el contrario, la inducción de la COX-2 se da principalmente en células inflamatorias activadas por citocinas inflamatorias. Así, la COX-2 es la principal responsable de la generación de mediadores prostanoideos de la inflamación, aunque hay excepciones significativas. La COX-2 constitutiva se expresa en el riñón, generando prostaciclina, que desempeña funciones en la homeostasis renal, y en el sistema nervioso central (SNC), donde su papel no está claro.

La mayoría de los AINE inhiben la COX-1 y la COX-2, aunque su potencia relativa frente a ambas es variable.

La acción antiinflamatoria de los AINEs se dice que se relaciona con la inhibición de la COX-2; sin embargo, la inhibición de la COX-1 es la que va a generar, en gran medida, sus efectos adversos (a nivel del tubo digestivo).

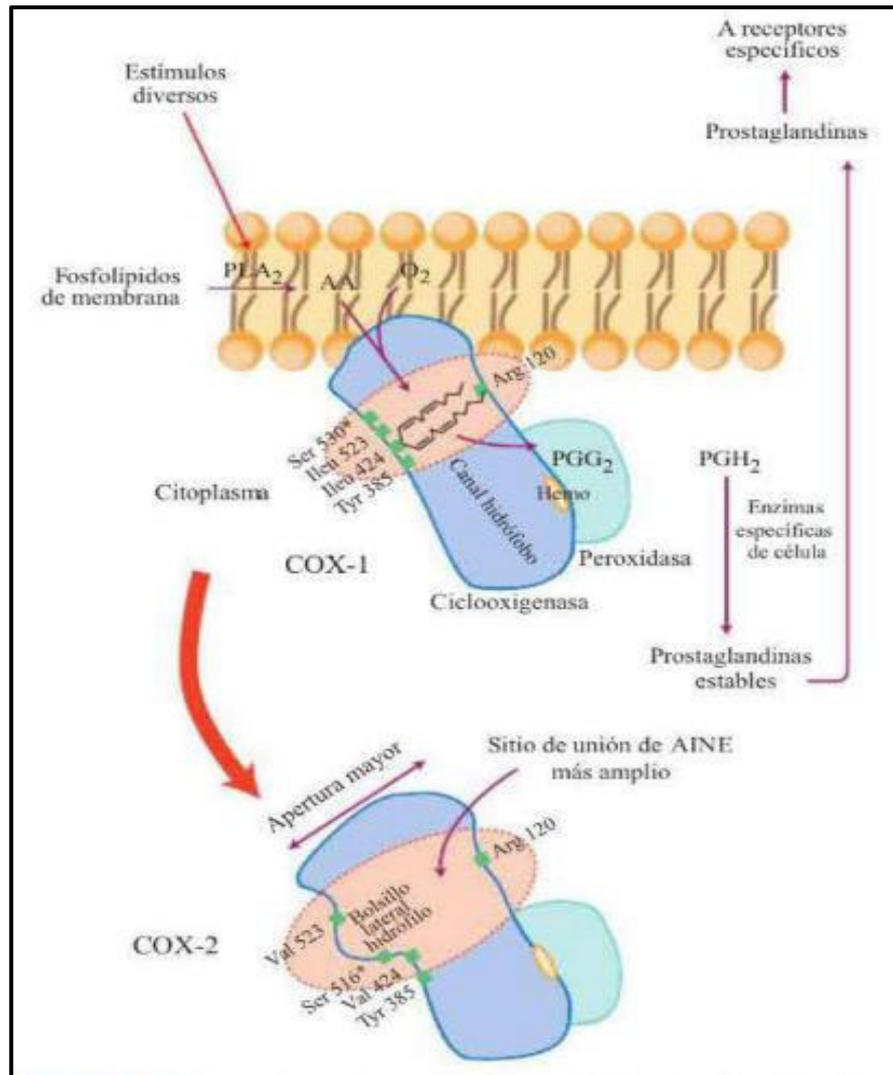


Figura 7. Mecanismo de acción de los AINEs sobre la ciclooxigenasa (COX)

Fuente: P. Lorenzo. et al. (2018)²².

- **Inhibición irreversible de la ciclooxigenasa por el ácido acetilsalicílico**

La acetilación covalente del ácido acetilsalicílico, con las subunidades catalíticas de la COX-1 y de la COX-2, concluye en la inhibición irreversible de la actividad de la COX. Ésta es una diferencia significativa en comparación a los demás AINEs, porque la duración de los efectos del ácido acetilsalicílico se relaciona con la tasa de rotación de COX en diferentes tejidos. La importancia de los cambios enzimáticos en la restauración de la acción del ácido acetilsalicílico

es aún más pronunciada en las plaquetas que no tienen núcleo y tienen una capacidad limitada para la síntesis de las proteínas. Por lo tanto, persisten los efectos de la inhibición de COX-1 sobre las plaquetas. La inhibición de la formación de TxA2 dependiente de la COX-1 de la plaqueta se acumula con la readministración de ácido acetilsalicílico para recuperarse por completo una vez que se ha interrumpido el tratamiento²⁹.

A diferencia del ácido acetilsalicílico, el ácido salicílico no tiene capacidad de acetilación. Es un inhibidor reversible relativamente débil de COX. Los derivados del ácido salicílico, así como el ácido, están disponibles para uso clínico.

La COX está configurado para acceder al sitio activo del sustrato AA a través de un canal hidrófobo. El ácido acetilsalicílico realiza una acetilación en la serina 529 de la COX-1, ubicada en la sección alta del canal hidrófobo. El voluminoso residuo de acetilo evita que el AA se una al sitio activo de la enzima y, por lo tanto, inhibe la capacidad de la enzima para producir PG. El ácido acetilsalicílico acetila la serina en la posición 516 en la COX-2, a pesar de que la modificación covalente de la COX-2 por el ácido acetilsalicílico también bloquea la actividad de la COX de esta isoforma²⁹.

b. Acción Terapéutica

Los AINEs tienen actividad antipirética, analgésica y antiinflamatoria (a excepción del paracetamol).

Es especialmente beneficioso en la terapia de enfermedades musculoesqueléticas, como artrosis, artritis reumatoide y espondilitis, aunque los efectos suelen ser sintomáticos, no tanto en el desarrollo de la enfermedad²².

La reducción de la inflamación con AINE suele dar como resultado un alivio del dolor durante periodos significativos, por lo que es apropiado para el tratamiento de afecciones inflamatorias tanto agudas como crónicas²⁸.

2.1.4.3.2. Fármacos antiinflamatorios esteroideos

a. Glucocorticoides

Los glucocorticoides poseen acción antiinflamatoria inmediata como tardía debido a la interacción del glucocorticoide con los factores de transcripción activando por ligandos ($GR\alpha$) y de su posterior acción transrepresora o transactivadora sobre los genes correspondientes; esto promueve la transcripción de genes que codifican proteínas antiinflamatorias, inhibiendo la formación o el efecto de mediadores químicos inflamatorios³².

2.1.5. Metabolitos

2.1.5.1. Alcaloides

Son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y mayoritariamente de origen vegetal. Su estructura es compleja y ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis bajas, son tóxicas y precipitan con ciertos reactivos, como reactivo de Wagner, reactivo de Mayer, reactivo de Dragendorff, entre otras.

Se encuentran distribuidos fundamentalmente en las angiospermas, sobre todo en dicotiledóneas y las monocotiledóneas, excepcionalmente pueden encontrarse en bacterias³³.

2.1.5.1.1. Propiedades fisicoquímicas

Normalmente son sólidos incoloros y cristalizables, poseen poder rotatorio, con peso molecular entre 100 D - 900 D, y puntos de fusión inferiores a 200 °C. En su forma base son compuestos poco solubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, mientras que en forma de sal son hidrosolubles, solubles en alcoholes e insolubles en disolventes muy apolares. La solubilidad depende del pH, ya que al variar el pH el nitrógeno básico está más o menos protonado. A pH ácido predomina la forma protonada soluble en agua y mezclas hidroalcohólicas. A pH básico los alcaloides están casi siempre en forma libre³³.

Se dividen en 3 grupos característicos: alcaloides verdaderos, con el nitrógeno heterocíclico y procedentes de aminoácidos; protoalcaloides, que son aminas simples con carácter básico, nitrógeno no heterocíclico y formados también a partir de aminoácidos, y pseudoalcaloides, con propiedades idénticas a los alcaloides verdaderos pero que no proceden de aminoácidos³³.

2.1.5.1.2. Clasificación

Los alcaloides se clasifican según su estructura y en base a su origen biosintético. A continuación, un resume de su clasificación³⁴.

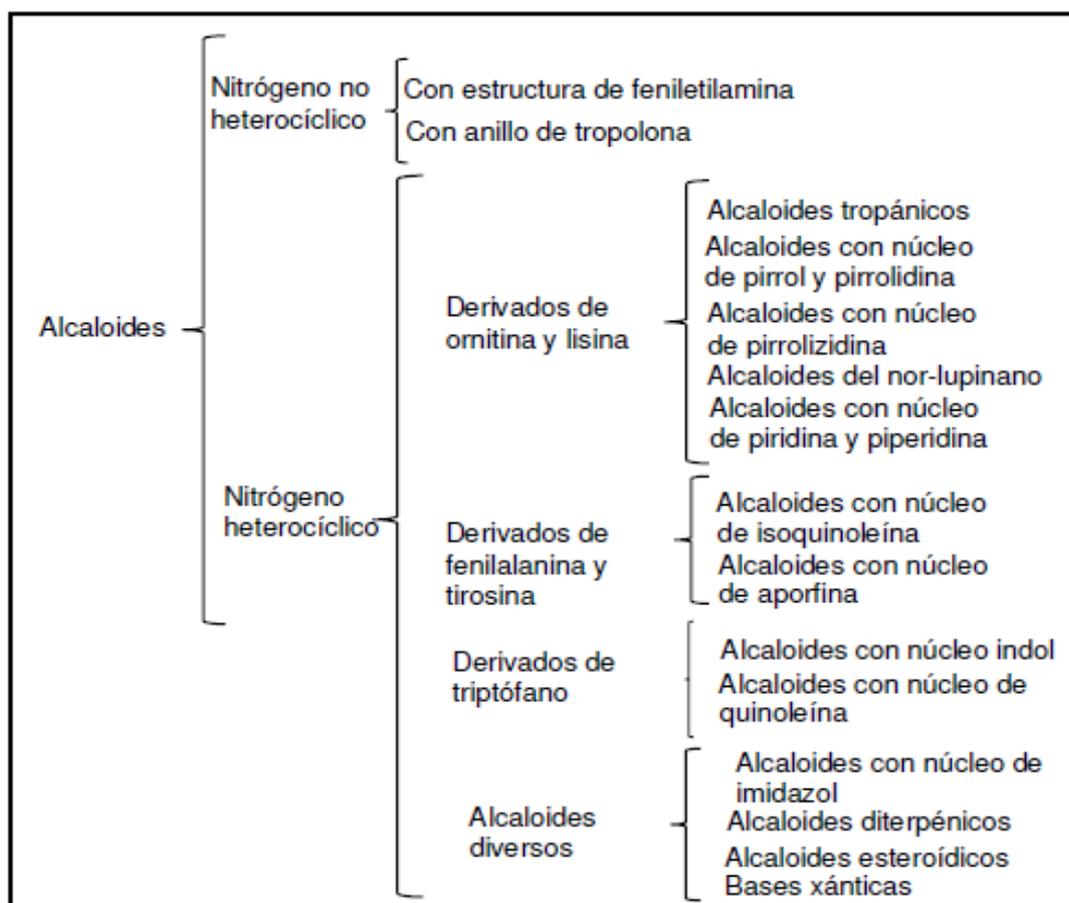


Figura 8. Clasificación de alcaloides en base a su estructura química y origen biosintético.

Fuente: Kuklinski C. (2000)³⁴.

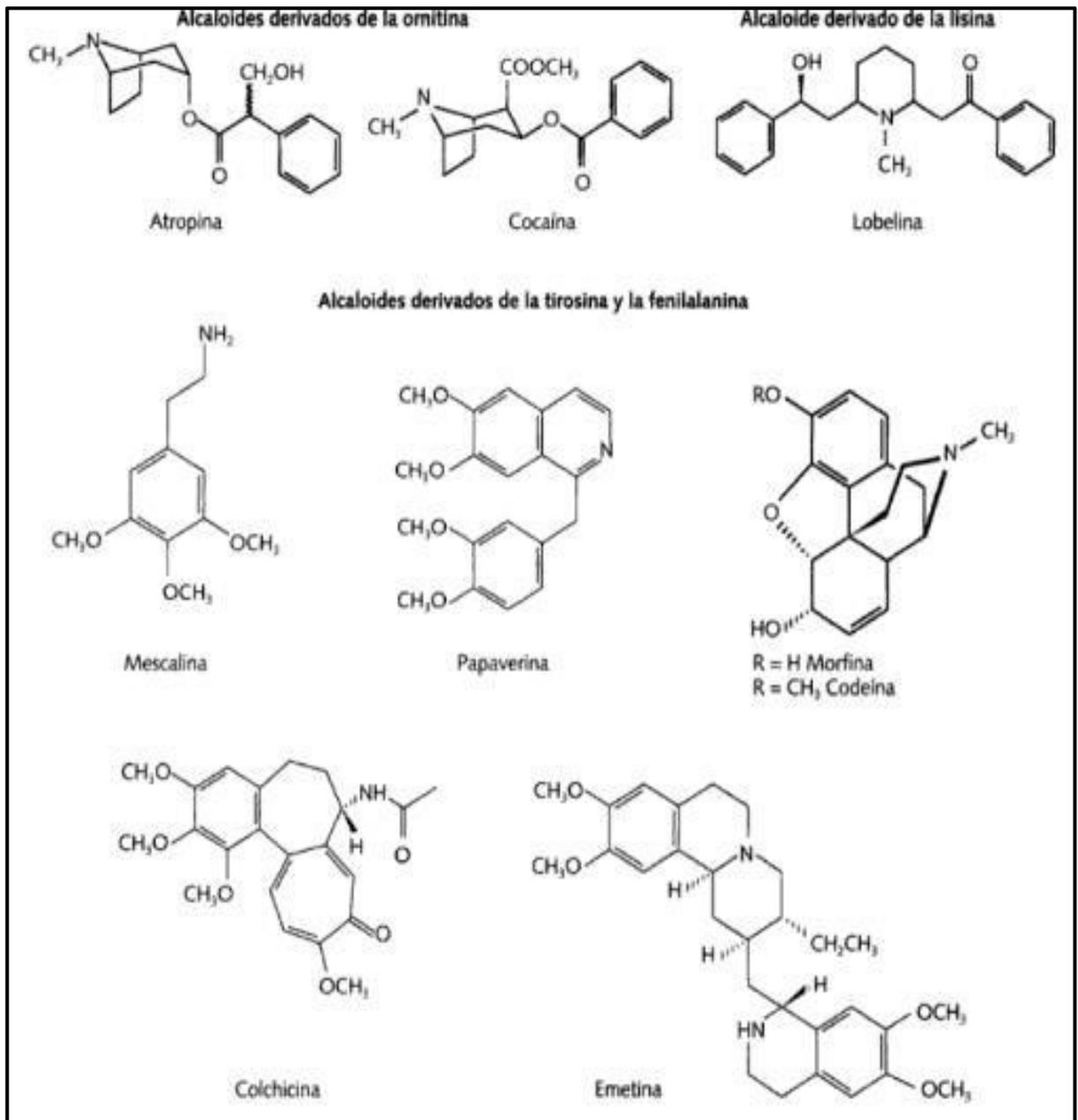


Figura 9. Estructuras químicas de alcaloides derivados de la ornitina, la lisina, la fenilalanina y la tirosina
Fuente: Castillo E. (2007)³³.

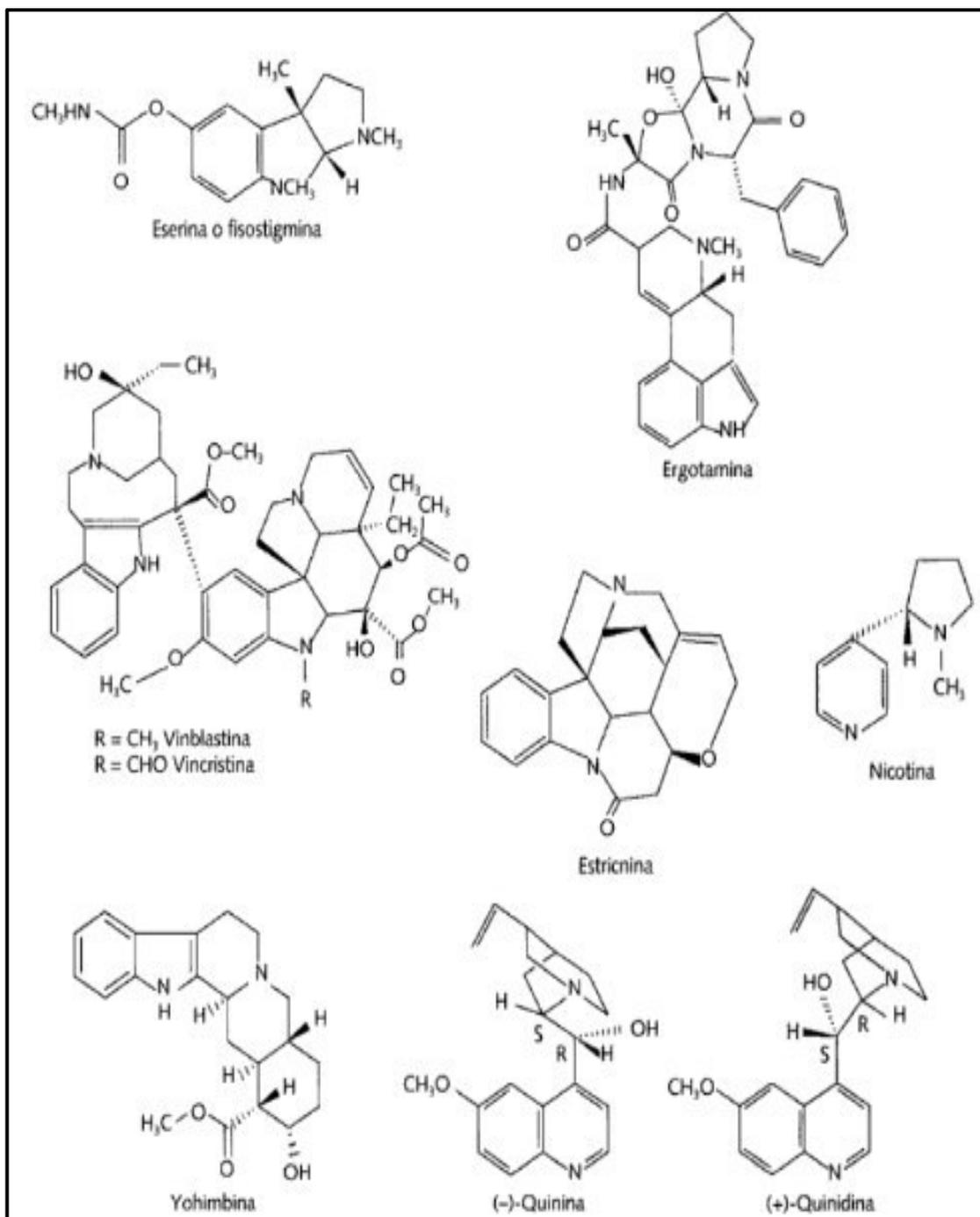


Figura 10. Estructura química de alcaloides derivados del triptófano y ácido nicotínico.

Fuente: Castillo E. (2007)⁹³.

2.1.5.1.3. Propiedades farmacológicas

Los alcaloides poseen actividad farmacológica y pueden ser utilizados en diversos campos:

- Depresores (morfina, escopolamina) o estimulantes (cafeína, estricnina) del sistema nervioso central.
- Simpaticomiméticos (efedrina) o simpaticolíticos (algunos alcaloides del cornezuelo de centeno), parasimpaticomiméticos (eserina, pilocarpina), anticolinérgicos (hiosciamina, atropina), gangliopléjicos (esparteína, nicotina) del sistema nervioso autónomo.

Asimismo, encontramos los anestésicos locales (cocaína), curarizantes, antifibrilantes (quinidina), antipalúdicos (quinina), antitumorales (vinblastina, elipticina) y amebicidas (emetina). Es debido a estas actividades la importancia del uso de las drogas con alcaloides³⁵.

2.1.5.2. Triterpenos y Esteroides

Los triterpenos son terpenos formados biosintéticamente por seis unidades de isopropeno y derivan de un precursor de C₃₀, el escualeno; de acuerdo con su estructura estos pueden ser tetracíclicos o pentacíclicos³⁶.

Entre triterpenos y esteroides se podría decir que no existen diferencias fundamentales ya que la unidad estructural de los triterpenos es muy diferenciada en los esteroides, “pueden ser considerados como triterpenos tetracíclicos que han perdido, como mínimo, tres metilos”³⁵.

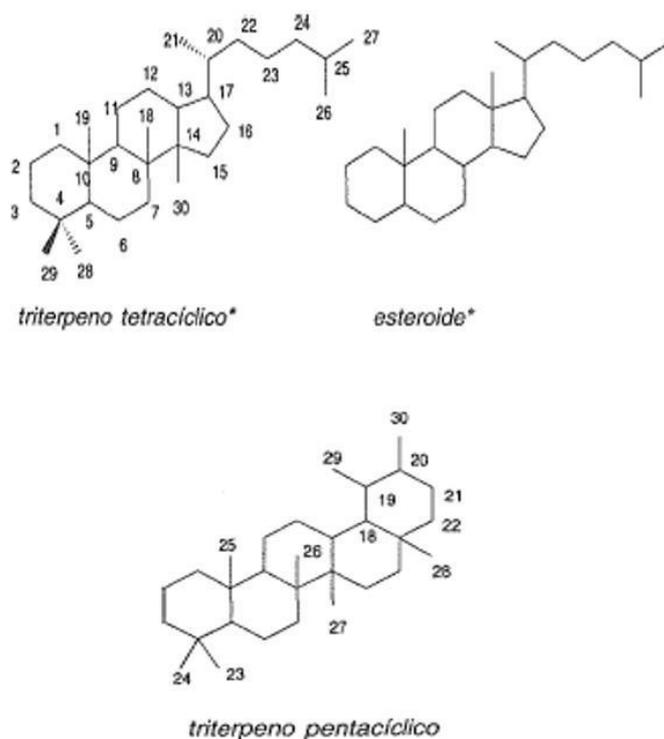


Figura 11. Comparación estructural de triterpenos y esteroides
Fuente: Bruneton J. (2001)³⁵.

Los triterpenos como los esteroides están siendo estudiados por mostrar actividad analgésica, antifúngicos, antimicrobiana, antiinflamatoria y citotóxica^{35,36}.

2.1.5.3. Fenoles

Los fenoles son producidos principalmente por la vía del ácido Shikimato a partir de L-fenilalanina y L-tirosina, pueden contener uno o más grupos hidroxilo unidos al anillo aromático. Son similares a los alcoholes, con estructura alifática, pero con el anillo aromático y el átomo de hidrogeno del grupo hidroxilo fenólico, lo que los convierte en ácidos débiles³⁷.

Generalmente los compuestos fenólicos están unidos a amidas, esteroides o glucósidos y rara vez en forma libre; estos compuestos se dividen en fenoles simples, ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico y ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico³⁷.

Muchos de los compuestos fenólicos presentan interés farmacológico por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, anticancerosas, antivirales, antitrombóticos, hepatoprotectores y antialérgicos³⁷.

2.2. Antecedentes

Saleem A, et al (2020) investigaron la potencial actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiartrítica de distintos extractos de las hojas de *Moringa oleifera* en el cual la actividad antiinflamatoria (*in-vitro*), a concentraciones entre 50-1600 ug/mL, se determinó por los ensayos de inhibición de desnaturalización de la albúmina sérica bovina, de inhibición de desnaturalización de albúmina de huevo y de estabilización de células rojas humanas, que existe la actividad antiinflamatoria a las concentraciones realizadas y que contribuye a la actividad antiartrítica y antioxidante de la especie³⁸.

Bajpai A, et al. (2019) estudiaron la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleifera* en ratas Wistar. El ensayo de la actividad analgésica se realizó por el método Tail flick con concentraciones de extracto 100, 200 y 400 mg/Kg comparándose con diclofenaco, por lo que se concluyó que todas las concentraciones del extracto mostraron actividad analgésica con mayor actividad a la concentración de 400 mg/kg³⁹.

Cui C., et al. (2019) obtuvieron un nuevo polisacárido, denominado MRP-1, el cual se obtuvo de las raíces de *Moringa oleifera* por extracción con agua caliente seguido de precipitación con etanol y se purificó con columna DEAE-Sepharose Fast Flow. Las células de macrófagos RAW264.7 inducidas por LPS se usaron para evaluar la actividad antiinflamatoria de MRP-1, demostrando que la producción de NO y TNF- α inducida por LPS podría prevenirse mediante diferentes concentraciones de tratamiento con MRP-1⁴⁰.

Yong-Bing Xu , Gui-Lin Chen y Ming-Quan Guo (2019) compararon las actividades antioxidantes y antiinflamatorias de los extractos crudos de etanol de hojas, semillas y raíces de *Moringa oleifera* de Kenia. Observándose que los extractos de hojas y semillas ejercieron actividades antiinflamatorias, como lo indica la inhibición de la producción de NO; y el contenido total de flavonoides (TFC) de las hojas, semillas y raíces los cuales son 192.36 ± 2.96 , $5.89 \pm 0,65$ y $106,79 \pm 2,12$ mg de rutina equivalente (RE) / g, respectivamente. Estos hallazgos indicaron que las hojas de *M. oleifera* son una mejor fuente natural potencial de agentes antiinflamatorios⁴¹.

Martinez L., et al. (2017) investigaron la potencial actividad antiinflamatoria y analgésica de *Moringa oleifera*. Realizaron una evaluación farmacológica de extractos no polares y / o polares en varias dosis (30–300 mg/kg, p.o.) mediante nocicepción experimental usando prueba de formalina, edema de la pata inducido por λ -carragenina y artritis con inyección subcutánea de colágeno en ratas. Ambos tipos de extractos mostraron inhibición significativa de la inflamación en los diferentes modelos experimentales. Concluyendo que los extractos de hojas de *M. oleifera* dan evidencia de su potencial para el tratamiento del dolor⁴².

Chimedza A., et al. (2017) compararon el efecto antiinflamatorio del extracto de semilla de *Moringa oleifera* enriquecido con isotiocianato (MSE), con un extracto de cúrcuma enriquecido con curcuminoide (CTE). La MSE mostró una reducción en el edema plantar de la rata inducido con λ -carragenina comparable a la aspirina, mientras que el CTE no tuvo ningún efecto significativo. Los usos tradicionales de la moringa como planta antiinflamatoria resaltan el potencial de las preparaciones de semillas de moringa enriquecidas con isotiocianato para desempeñar un papel en la prevención y el tratamiento de afecciones inflamatorias crónicas⁴³.

Ayon B., et al. (2014) estudiaron la actividad antipirética del extracto etanólico de *Moringa oleifera* en ratas. Se administró dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg por vía oral a los grupos conformados por 10 ratas. Para inducir la pirexia se

usó una suspensión al 20% de levadura de cerveza en solución salina normal, se inyectó por vía subcutánea a una dosis de 10 ml / kg de peso corporal, la pirexia se desarrolló después de 10 h de inyección de levadura de cerveza. Como resultados se obtuvo que el extracto etanólico de las hojas de *M. oleifera* mostró actividad antipirética significativa ($P < 0.05$) en 100, 200 y 400 mg/kg⁴⁴.

Jayabharathi M., Chitra M. (2011) analizaron la actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética del extracto etanólico de las flores de *Moringa concanensis*. Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria, se aplicó el modelo de edema subplantar, la dosis usada del extracto de *Moringa concanensis* fue de 200 mg/kg de peso. La actividad antipirética se evaluó, administrando levadura de cerveza para inducir a la pirexia a las ratas, luego se le midió la temperatura rectal a las 18h; mientras que la actividad analgésica se determinó mediante un estímulo nocivo térmico. Se concluyó que la dosis de 200 mg/kg de peso, del extracto de *Moringa concanensis* exhibió significativamente actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética⁴⁵.

Sutar N., et al. (2008) demostraron, por el método de Hot Plate e inmersión de cola, que de un grupo de extractos que abarca: etil acetato, dietil éter, alcohol, éter de petróleo y n-Butanol; solo el extracto alcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam., administradas a ratas albinas Wistar machos, posee actividad analgésica comparable a la del fármaco estándar (aspirina) a la dosis de 25 mg / kg de peso corporal⁴⁶.

Hukkeri V., et al. (2006) confirmaron que los extractos etanólicos y de acetato de etilo de las semillas de *Moringa oelifera* mostraron una actividad antipirética significativa en ratas, mientras que el extracto de acetato de etilo de hojas secas mostró una importante actividad de curación de heridas (10% de extractos en forma de ungüento) en modelos de heridas por escisión, incisión y espacio muerto (granuloma) en ratas⁴⁷.

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

El extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam. tiene efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio in vivo en ratas Holtzman.

3.2. Variables

3.2.1. Variable Independiente

- Extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.

3.2.2. Variable Dependiente

- Efecto antipirético en ratas Holtzman posterior a la administración del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.
- Efecto analgésico en ratas Holtzman posterior a la administración del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.
- Efecto antiinflamatorio en ratas Holtzman posterior a la administración del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.

3.3. Operacionalización de variables

Tabla 3. Descripción de la operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	NATURALEZA	UNIDAD DE MEDIDA
V.I. Extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	<ul style="list-style-type: none"> Producto obtenido de la extracción por maceración de las semillas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 	<ul style="list-style-type: none"> Son extractos líquidos concentrados obtenidos de las plantas y solventes como agua y alcohol. 	<ul style="list-style-type: none"> Rendimiento del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 	<ul style="list-style-type: none"> Peso de las semillas trituradas de <i>Moringa oleifera</i> Lam. y peso del extracto seco de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 	Cuantitativa	Gramos
V.D. Actividad antipirética	<ul style="list-style-type: none"> Es capacidad para disminución del valor de la temperatura corporal. 	<ul style="list-style-type: none"> La administración por vía IP de suspensión de levadura de cerveza que provocará la pirexia (aumento de temperatura), el cual será medida por un termómetro rectal, y luego se administrarán los extractos para realizar las mediciones y calcular los cambios en la temperatura. 	<ul style="list-style-type: none"> Cambio en la temperatura corporal 	<ul style="list-style-type: none"> Elevación mayor a 1.5 °C con respecto a la temperatura basal y cambios de la temperatura postratamiento 	Cuantitativa	Temperatura (T°)
Actividad analgésica	<ul style="list-style-type: none"> Es la capacidad de disminución o pérdida de dolor. 	<ul style="list-style-type: none"> El estímulo térmico, a través de una placa caliente, produce efecto doloroso al colocar al animal sobre la placa. Posterior a ello, se administrarán los extractos y se realizará las mediciones para observar los cambios. 	<ul style="list-style-type: none"> Cambio en el tiempo de respuesta al estímulo nociceptivo 	<ul style="list-style-type: none"> Tiempo basal y tiempo postratamiento en el que se presenta cambios como brincos y levantamiento y/o lamido de las patas. 	Cuantitativa	Segundos (s)
Actividad antiinflamatoria	<ul style="list-style-type: none"> Es la capacidad de disminución o pérdida de la inflamación. 	<ul style="list-style-type: none"> La administración de <i>λ</i>-carragenina en la zona subplantar produce efecto inflamatorio. La medición se realiza con el pletismómetro digital, la expresión del edema es la diferencia entre el incremento del volumen de la pata con respecto al inicio. 	<ul style="list-style-type: none"> Cambio en el volumen de la pata por el edema 	<ul style="list-style-type: none"> Volumen basal y postratamiento de volumen de edema 	Cuantitativa	Volumen de edema post tratamiento (mL)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4.2. Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, prospectivo y transversal.

4.3. Población y muestra

La población estuvo definida por ratas macho Holtzman de 150 a 280 g de peso corporal, los cuales fueron adquiridos del bioterio del Instituto Nacional de Salud.

La muestra estuvo conformada por 6 ratas por cada grupo de experimentación para cada efecto terapéutico a evaluar.

4.4. Metodología

4.4.1. Recolección de la planta

Las semillas de *Moringa oleifera* Lam., fueron recolectadas en la provincia de Bagua Grande del departamento de Amazonas, en el mes de marzo del 2020. Se identificó taxonómicamente por un botánico especializado (Anexo 1).



Figura 12. Semillas de *Moringa oleifera* Lam.

4.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

Las semillas fueron limpiadas de residuos de polvo y se descascararon de manera manual. Una vez obtenida la muestra, se realizó la molienda con un mortero y pilón hasta obtener un polvo granuloso uniforme, y se pesó la cantidad de muestra obtenida.

Se pesó 200 g del material vegetal pulverizado, y se colocó cantidades iguales (100 g) en dos frascos ámbar de capacidad de 4 L, a cada frasco se adicionó 630 mL de etanol al 96% más agua destilada 270 mL. Se maceró durante una semana con agitación diaria, vigorosamente por 10 min dos veces al día.

Posteriormente, se filtró el macerado con papel filtro y el extracto obtenido se depositó en placas Petri de 20 cm de diámetro, debidamente rotuladas, para luego evaporar el solvente en la estufa con extractor a una temperatura de 37 °C por 24 horas, obteniéndose un extracto seco.

Finalmente, se pesó el extracto seco obtenido y se procedió a colocarlo en un envase de plástico opaco debidamente rotulado a temperatura ambiente (25°C).

4.4.3. Marcha fitoquímica

Se determinó cualitativamente la presencia de metabolitos en el CENTRO DE CONTROL ANALITICO – CCA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se uso 10 g de extracto hidroalcohólico seco de *Moringa oleifera* Lam. del cual se realizaron las siguientes reacciones:

Tabla 4. Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Metabolito	Ensayo
Antocianinas	Prueba cualitativa Reacción de Dragendorff
Alcaloides	Reacción de Mayer Reacción de Wagner
Lactonas	Reacción de Baljet
Flavonoides	Reacción de Shinoda
Aminoácidos	Reacción de Ninhidrina
Cardenólidos	Reacción de Kedde
Esteroides	Reacción de Liebermann Burchard
Saponinas	Reacción de espuma
Taninos	Reacción de cloruro férrico
Triterpenos	Reacción de Liebermann Burchard
Azúcares reductores	Reacción de Fehling
Fenoles	Reacción de cloruro férrico

4.4.4. Determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se indujo a fiebre por el método químico de inoculación, el cual consiste en la administración por vía subcutánea de una suspensión de levadura de cerveza al 15%.

Para ello se usaron 6 ratas albinas machos, de la raza Holtzman, por cada grupo de experimentación, procedentes del Instituto Nacional de Salud, con un peso corporal que oscila entre 169 hasta 273 g, con aclimatación por un rango de tiempo no menor de 7 días y sometidas a ayuno 24 horas antes de la prueba.

Tabla 5. Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto antipirético.

Grupo	Sustancias administradas
G1	Control negativo: solución salina 10 mL/Kg
G2	Control positivo: Paracetamol (PANADOL®) 100 mg/Kg
G3	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg

Preparación de la muestra experimental: Se pesó 125 mg, 500 mg y 2000 mg de extracto seco, luego se llevaron a 3 fioles de 50 mL y cada fiola se aforó con agua destilada para la preparación de las soluciones con las siguientes concentraciones: 0.0025 g/mL, 0.01 g/mL y 0.04 g/mL respectivamente.

Preparación del patrón: se trabajó con tabletas de 500 mg de paracetamol (PANADOL®). Se tomó dos tabletas de PANADOL®, luego se trituraron con un mortero y pilón, se tomó un peso de 500 mg y se llevó a una fiola de 50 mL aforando con agua destilada.

Procedimiento:

Previamente a la realización de la prueba, las ratas experimentaron una medición de temperatura basal, para lo cual se empleó un termómetro rectal. Posteriormente se administró 10 mL/Kg de peso corporal de una suspensión al 15% de levadura de cerveza en solución salina fisiológica. Después de cuatro horas y evidenciada la elevación de 1.5 °C respecto a la temperatura basal, se administró por vía orogástrica a cada grupo las dosis descritas a continuación:

Tabla 6. Volúmenes administrados a cada grupo experimental para el efecto antipirético.

Grupo	Sustancia administrada	Volumen administrado
G1	Solución salina 10 mL/Kg	Entre 1.89 mL a 2.65 mL
G2	Paracetamol (PANADOL®) 100 mg/Kg	Entre 1.81 mL a 2.42 mL
G3	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg	Entre 2.37 mL a 2.89 mL
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg	Entre 1.96 mL a 2.39 mL
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg	Entre 1.79 mL a 2.47 mL

Luego se midió la temperatura rectal a las 1,2,3 y 4 horas post administración.

Análisis estadístico: Los resultados se analizaron empleando el programa SPSS 25, donde se utilizaron los promedios de las temperaturas para cada grupo, a los tiempos: 1, 2, 3 y 4 horas postratamiento. La prueba paramétrica utilizada fue ANOVA, al 95% ($p < 0.05$). Luego de hallar diferencias

significativas, se procedió a realizar la prueba de Tukey para determinar cuáles son los grupos en los que existe diferencia estadísticamente significativa.

Hipótesis:

H₀: Los valores promedios de las temperaturas de los grupos son iguales

H₁: Por lo menos uno de los promedios de las temperaturas de los grupos es diferente.

Si:

$p < 0.05$: Se rechaza la H₀

$p > 0.05$: No se rechaza la H₀

4.4.5. Determinación del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El método usado fue Hot Plate, el cual consiste en obtener una respuesta a un estímulo nociceptivo de naturaleza térmica, al colocar al animal sobre una placa caliente a $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y se mide el tiempo en el que se observa una respuesta de sensibilidad caracterizada por el lamido de las patas, el salto o 3 elevaciones⁴⁵.

Para ello se usaron 6 ratas albinas machos por cada grupo de experimentación, de la cepa Holtzman, procedentes del Instituto Nacional de Salud, con un peso entre 150 a 203 g, aclimatadas por un periodo no menor de 7 días y sometidas a ayuno 24 horas antes de la prueba.

Tabla 7. Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto analgésico.

Grupo	Sustancias administradas
G1	Control negativo: solución salina 10 mL/Kg
G2	Control positivo: Tramadol (Tramal®) 20 mg/Kg
G3	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg

Preparación de la muestra experimental: Se pesó 125 mg, 500 mg y 2000 mg de extracto seco, luego se llevaron a 3 fioles de 50 mL y cada fiola se aforó con agua destilada para la preparación de las soluciones con las siguientes concentraciones: 0.0025 g/mL, 0.01 g/mL y 0.04 g/mL respectivamente.

Preparación del patrón: se trabajó con tramadol (TRAMAL®) ampolla de 50 mg/mL. Se tomó 2 mL de la ampolla de TRAMAL® y se llevó a una fiola de 50 mL aforando con agua destilada.

Procedimiento:

Antes de llevar a cabo la experiencia, se determinó el periodo de latencia para determinar el umbral doloroso basal de cada rata en el Hot Plate LE 7406 Panlab, antes de la administración del tratamiento; se excluyeron a las ratas con latencias basales menor a 6 segundos o mayores a 15 segundos. Posterior a esto, se realizó la administración del tratamiento por vía orogástrica:

Tabla 8. Volúmenes administrados a cada grupo experimental del efecto analgésico.

Grupo	Sustancia administrada	Volumen administrado
G1	Solución salina 10 mL/Kg	Entre 1.6 mL a 2.0 mL
G2	Tramadol (TRAMAL®) 20 mg/Kg	Entre 1.5 mL a 2.0 mL
G3	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg	Entre 1.6 mL a 2.0 mL
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg	Entre 1.7 mL a 2.0 mL
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg	Entre 1.7 mL a 2.0 mL

Se realizó las mediciones en el Hot Plate LE 7406 Panlab a los 30, 60, 120 y 180 minutos postratamiento.

El porcentaje de analgesia es determinado mediante la siguiente fórmula⁴⁸:

$$\% \text{ Analgesia} = [(LP - LB) / (TC - LB) \times 100]$$

LP = Latencia postratamiento

LB = Latencia basal

TC = tiempo de corte

Análisis estadístico: Los resultados se analizaron empleando el programa SPSS 25, donde se utilizaron los promedios de los porcentajes de analgesia para cada grupo, a los tiempos: 30, 60, 120 y 180 minutos postratamiento. La prueba paramétrica utilizada fue ANOVA, al 95% ($p < 0.05$). Luego de hallar diferencias significativas, se procedió a realizar la prueba de Tukey para determinar cuáles son los grupos en los que existe diferencia estadísticamente significativa.

Hipótesis:

H₀: Los valores promedios de los porcentajes de analgesia de los grupos son iguales

H₁: Por lo menos uno de los promedios de los porcentajes de analgesia de los grupos es diferente.

Si:

p<0.05: Se rechaza la H₀

p>0.05: No se rechaza la H₀

4.4.6. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se determinó el efecto antiinflamatorio mediante el método del edema de pata inducido por λ -carragenina. Para ello se usaron 6 ratas albinas machos por cada grupo de experimentación, de la cepa Holtzman, procedentes del Instituto Nacional de Salud, con un peso corporal que oscila entre 235 hasta 283 g, aclimatadas por un rango de tiempo no menor de 7 días y sometidas a ayuno 24 horas antes de la prueba.

Tabla 9. Dosis de las sustancias administradas a cada grupo de experimentación para el efecto antiinflamatorio.

Grupo	Sustancias administradas
G1	Control negativo: solución salina 10 mL/Kg
G2	Control positivo: Diclofenaco (Voltaren®) 10 mg/Kg
G3	Control positivo: Diclofenaco (Voltaren®) 25 mg/Kg
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg
G6	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg

Preparación de la muestra experimental: Se pesó 125 mg, 500 mg y 2000 mg de extracto seco, luego se llevaron a 3 fioles de 50 mL y cada fiola se aforó con agua destilada para la preparación de las soluciones con las siguientes concentraciones: 0.0025 g/mL, 0.01 g/mL y 0.04 g/mL respectivamente.

Preparación del patrón: se trabajó con diclofenaco (VOLTAREN®) ampolla de 75 mg / 3mL.

Para la obtención de 1 mg/mL, se tomó 2 mL de la ampolla de VOLTAREN® y se llevó a una fiola de 50 mL aforando con agua destilada.

Para la obtención de 2.5 mg/mL, se tomó 5 mL de la ampolla de VOLTAREN® y se llevó a una fiola de 50 mL aforando con agua destilada.

Procedimiento:

Se realizó la medición del volumen basal de la pata posterior derecha a cada rata y se procedió a administrar las dosis de tratamiento:

Tabla 10. Volúmenes administrados a cada grupo experimental del efecto antiinflamatorio.

Grupo	Sustancia administrada	Volumen administrado
G1	Solución salina 10 mL/Kg	Entre 2.5 mL a 2.7 mL
G2	Diclofenaco (Voltaren®) 10 mg/Kg	Entre 2.4 mL a 2.8 mL
G3	Diclofenaco (Voltaren®) 25 mg/Kg	Entre 2.4 mL a 2.8 mL
G4	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 25 mg/Kg	Entre 2.4 mL a 2.7 mL
G5	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 100 mg/Kg	Entre 2.5 mL a 2.7 mL
G6	Extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. 400 mg/Kg	Entre 2.5 mL a 2.7 mL

Después de 1 hora se procedió a administrar 0.1 mL de λ -carragenina 1% en la zona subplantar de la pata trasera derecha del animal en todos los grupos.

Se realizó las mediciones con el pletismómetro digital PANLAB LE7500 a las 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la administración de λ -carragenina.

La expresión del edema es la diferencia entre el incremento del volumen de la pata con respecto al volumen basal. La actividad antiinflamatoria se calcula en relación con el % de inhibición de edema mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición de edema} = [(VEC - VEP)/VEC \times 100]$$

VEC = volumen de edema control

VEP = volumen de edema postratamiento

Análisis estadístico: Los resultados se analizaron empleando el programa SPSS 25, donde se utilizaron los promedios de los porcentajes de inhibición de edema para cada grupo, a los tiempos: 60, 120, 180, 240, 300 y 360 minutos postratamiento. La prueba paramétrica utilizada fue ANOVA, al 95% ($p < 0.05$). Luego de hallar diferencias significativas, se procedió a realizar la prueba de Tukey para determinar cuáles son los grupos en los que existe diferencia estadísticamente significativa.

Hipótesis:

H₀: Los valores promedios de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos son iguales.

H₁: Por lo menos uno de los promedios de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos es diferente.

Si:

$p < 0.05$: Se rechaza la H₀

$p > 0.05$: No se rechaza la H₀

4.4.7. Determinación de la toxicidad aguda oral DL50

El ensayo se realizó en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. se llevó a cabo por el método indicado en la guía OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 423.

Se emplearon 3 ratas hembra y 3 ratas macho de la cepa Holtzman, procedentes del Instituto Nacional de Salud, con un peso entre 178 a 272 g, aclimatadas por un periodo no menor a 7 días y sometidas a ayuno 12 horas antes de la evaluación sin privación de agua.

Se administró la dosis de 2000 mg/Kg de peso a cada animal y fueron observados individualmente después de la administración de la dosis, durante los primeros 30 minutos, después cada 30 minutos durante las primeras 4 horas, luego cada hora hasta las primeras 12 horas, posteriormente, a las 24 horas y después cada 24 horas por 14 días.

La administración de alimentos fue 4 horas después de la administración de la dosis.

Los signos observados durante la prueba fueron evaluados en el test de Irwin.

V. RESULTADOS

5.1. Rendimiento del extracto hidroalcohólico

El rendimiento conseguido a partir de 200 gramos de muestra fue de 12 gramos de extracto seco, obteniéndose un rendimiento del 6 %.

5.2. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 11. Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Metabolito	Ensayo	Resultado
Antocianinas	Prueba cualitativa	-
	Reacción de Dragendorff	++
Alcaloides	Reacción de Mayer	+
	Reacción de Wagner	++
Lactonas	Reacción de Baljet	+
Flavonoides	Reacción de Shinoda	-
Aminoácidos	Reacción de Ninhidrina	++
Cardenólidos	Reacción de Kedde	-
	Reacción de Liebermann Burchard	+++
Saponinas	Reacción de espuma	-
Taninos	Reacción de cloruro férrico	++
	Reacción de Liebermann Burchard	+++
Azúcares reductores	Reacción de Fehling	++
Fenoles	Reacción de cloruro férrico	++

Presencia del metabolito:

(+): reacción poco evidente

(++): reacción evidente

(+++): reacción muy evidente

(-): No hubo reacción

En esta tabla, se describe los resultados de la marcha fitoquímica, donde se observa presencia muy evidente de los siguientes metabolitos: esteroides y triterpenos; y reacción evidente de los siguientes metabolitos: alcaloides, aminoácidos, taninos, azúcares reductores y fenoles (Anexo 3).

5.3. Determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 12. Valores promedio de las temperaturas (°C) de los tratamientos en el tiempo.

EFEECTO ANTIPIRÉTICO	Solución salina 10 mL/Kg	Paracetamol 100 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
Basal					
Promedio	35,43	35,28	35,48	36,08	36,32
Desviación estándar (±)	0,66	0,95	1,39	0,52	0,96
4 horas posterior a administración de levadura					
Promedio	37,40	37,57	37,13	37,57	37,60
Desviación estándar (±)	0,83	0,33	0,52	0,24	0,24
1 hora postratamiento					
Promedio	37,87	37,20	37,20	37,50	37,38
Desviación estándar (±)	0,73	0,71	0,38	0,23	0,42
2 horas postratamiento					
Promedio	37,97	37,05	37,35	37,37	37,32
Desviación estándar (±)	0,43	0,62	0,27	0,26	0,29
3 horas postratamiento					
Promedio	37,95	37,38	37,55	37,45	37,30
Desviación estándar (±)	0,12	0,17	0,27	0,23	0,25
4 horas postratamiento					
Promedio	37,97	37,42	37,62	37,37	37,32
Desviación estándar (±)	0,23	0,42	0,30	0,18	0,25

Para este caso se estableció que:

H₀: Los valores promedio de la temperatura de todos los grupos son iguales.

H₁: Por lo menos uno de los promedios de la temperatura de los grupos es diferente.

Del análisis ANOVA se evidencia que a los tiempos 2, 3 y 4 horas postratamiento, los promedios evidenciaron diferencias significativas, por ello, se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 . A estos tiempos, se les realizó la Prueba de Tukey (95%).

A los tiempos 4 horas post levadura y 1 hora postratamiento, los promedios no evidenciaron diferencias significativas, por lo que se asume que las variaciones de los promedios de temperatura son estadísticamente iguales.

5.4. Determinación del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 13. Valores promedios del tiempo de reacción al dolor (segundos) de los grupos.

EFEECTO ANALGÉSICO	Solución Salina 10 mL/Kg	Tramadol 20 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
Basal					
Promedio	6,70	7,07	7,45	6,81	6,52
Desviación estándar (\pm)	0,47	1,00	0,44	0,19	0,42
30 minutos					
Promedio	5,62	8,30	6,46	6,61	7,17
Desviación estándar (\pm)	1,00	1,54	0,75	0,75	0,90
60 minutos					
Promedio	5,26	8,30	7,19	7,42	7,57
Desviación estándar (\pm)	1,74	1,06	0,74	0,93	1,24
120 minutos					
Promedio	6,25	6,92	7,02	6,85	6,55
Desviación estándar (\pm)	0,57	1,09	0,33	0,89	0,58
180 minutos					
Promedio	5,88	6,38	6,54	7,24	6,28
Desviación estándar (\pm)	0,44	0,87	0,53	0,44	1,07

Tabla 14. Valores promedios de los porcentajes (%) de analgesia de los grupos.

EFEECTO ANALGÉSICO	Solución Salina 10 mL/Kg	Tramadol 20 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
30 minutos					
Promedio	-4,76	5,30	-4,42	-0,86	2,70
Desviación Estándar (\pm)	6,02	6,42	4,00	3,46	5,25
60 minutos					
Promedio	-6,33	5,16	-1,18	2,62	4,51
Desviación Estándar (\pm)	8,90	7,29	3,43	4,52	4,85
120 minutos					
Promedio	-1,98	-0,88	-1,93	0,16	0,13
Desviación Estándar (\pm)	3,44	7,60	2,73	3,80	2,68
180 minutos					
Promedio	-3,55	-3,24	-4,07	1,84	-0,99
Desviación Estándar (\pm)	2,16	7,34	2,57	1,67	3,98

Se estableció lo siguiente:

H_0 : Los valores promedio de los porcentajes de analgesia de los grupos son iguales.

H_1 : Por lo menos uno de los promedios de los porcentajes de analgesia de los grupos es diferente.

Del análisis ANOVA se evidencia que, para los tiempos 30 minutos y 60 minutos, los promedios de los porcentajes de analgesia evidenciaron diferencias significativas; por ello, se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 . A estos tiempos, se les realizó la Prueba de Tukey (95%), con el objetivo que, a través de las comparaciones múltiples, se determine que grupos, estadísticamente, difieren entre sí.

A los tiempos 120 y 180 minutos, los promedios de los porcentajes de analgesia no evidenciaron diferencias significativas, por lo que se asume que las variaciones de los promedios de los porcentajes de analgesia son estadísticamente iguales.

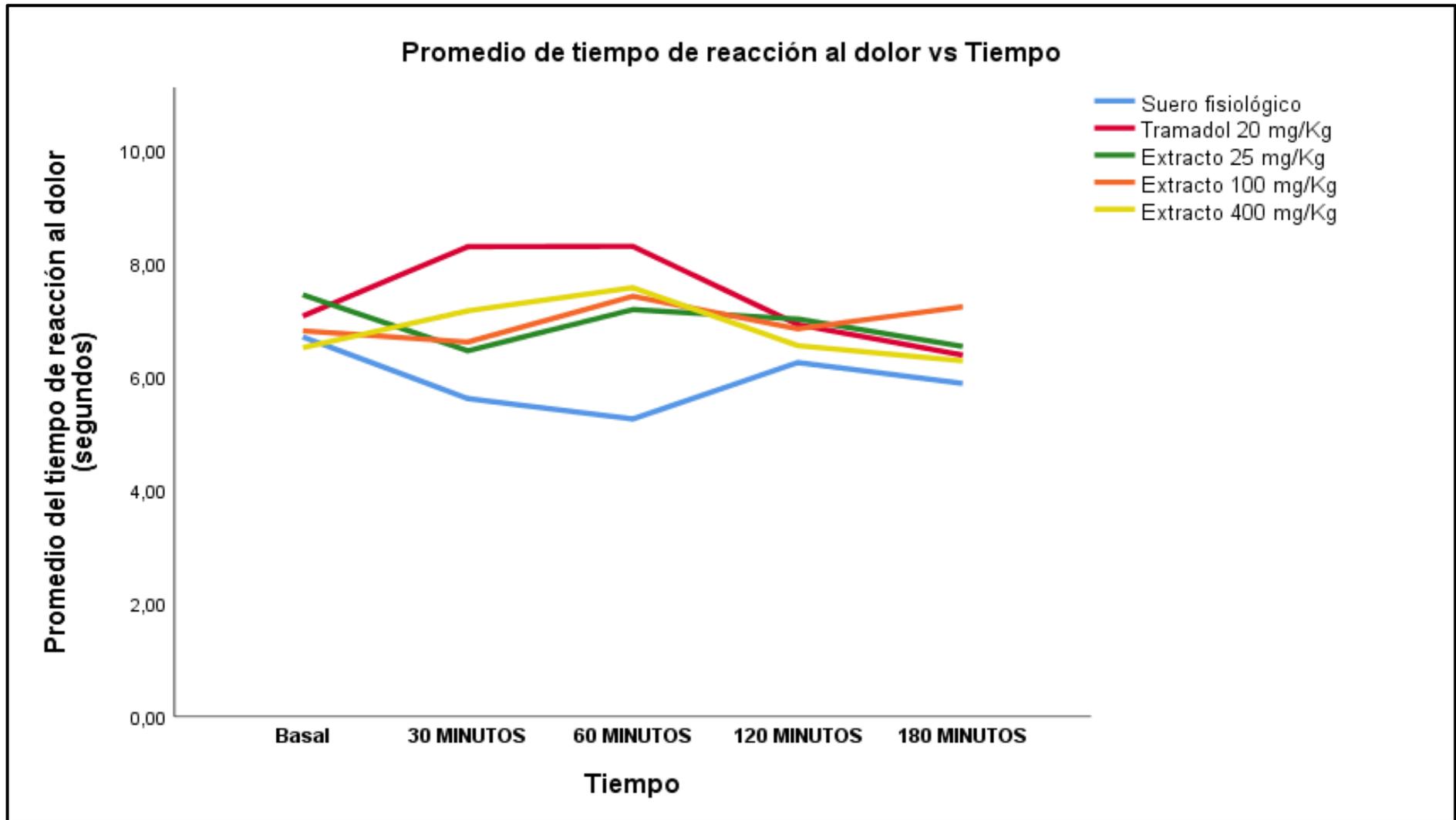


Figura 13. Promedios de tiempo de reacción al dolor vs tiempo

5.5. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

Tabla 15. Valores promedios del volumen (mL) de los grupos.

EFECTO ANTIINFLAMATORIO	Solución salina 10 mL/Kg	Diclofenaco 10 mg/Kg	Diclofenaco 25 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
Basal						
Promedio	1,43	1,38	1,28	1,37	1,41	1,47
Desviación estándar (±)	0,06	0,08	0,12	0,10	0,09	0,08
60 minutos						
Promedio	1,74	1,66	1,46	1,58	1,51	1,51
Desviación estándar (±)	0,14	0,06	0,10	0,13	0,07	0,10
120 minutos						
Promedio	1,65	1,49	1,45	1,45	1,47	1,49
Desviación estándar (±)	0,15	0,06	0,06	0,13	0,08	0,07
180 minutos						
Promedio	1,76	1,48	1,50	1,46	1,58	1,55
Desviación estándar (±)	0,16	0,09	0,05	0,08	0,11	0,06
240 minutos						
Promedio	1,71	1,52	1,55	1,55	1,63	1,66
Desviación estándar (±)	0,19	0,08	0,06	0,13	0,07	0,11
300 minutos						
Promedio	1,77	1,47	1,52	1,57	1,62	1,60
Desviación estándar (±)	0,15	0,10	0,06	0,13	0,06	0,08
360 minutos						
Promedio	1,75	1,52	1,50	1,60	1,63	1,57
Desviación estándar (±)	0,11	0,06	0,08	0,10	0,06	0,05

Tabla 16. Valores promedios de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos.

EFFECTO ANTIINFLAMATORIO	Solución salina 10 mL/Kg	Diclofenac o 10 mg/Kg	Diclofenac o 25 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
60 minutos						
Promedio	-22,25	4,60	16,19	9,29	13,51	13,03
Desviación estándar (±)	13,81	3,71	6,01	7,36	4,11	5,88
120 minutos						
Promedio	-15,09	9,60	12,33	12,32	10,91	9,59
Desviación estándar (±)	8,12	3,50	3,71	7,88	4,77	4,36
180 minutos						
Promedio	-22,80	15,91	14,58	17,33	10,13	11,93
Desviación estándar (±)	8,89	5,12	2,84	4,70	6,34	3,35
240 minutos						
Promedio	-19,79	11,02	9,45	9,16	4,78	2,73
Desviación estándar (±)	9,80	4,64	3,40	7,51	4,04	6,34
300 minutos						
Promedio	-23,48	16,86	14,03	11,49	8,38	9,70
Desviación estándar (±)	7,60	5,40	3,34	7,21	3,38	4,37
360 minutos						
Promedio	-22,16	13,43	14,10	8,76	6,76	10,29
Desviación estándar (±)	5,26	3,48	4,50	5,45	3,67	2,60

Se estableció lo siguiente:

H₀: Los valores promedio de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos son iguales.

H₁: Por lo menos uno de los promedios de los porcentajes de inhibición de edema de los grupos es diferente.

Del análisis ANOVA se evidencia que los promedios de los porcentajes de inhibición de edema evidenciaron diferencias significativas en los tiempos; por ello, se rechaza la H₀ y se acepta la H₁. A estos tiempos se les realizó la Prueba de Tukey (95%) para poder determinar cuáles son los grupos que, estadísticamente, difieren entre sí.

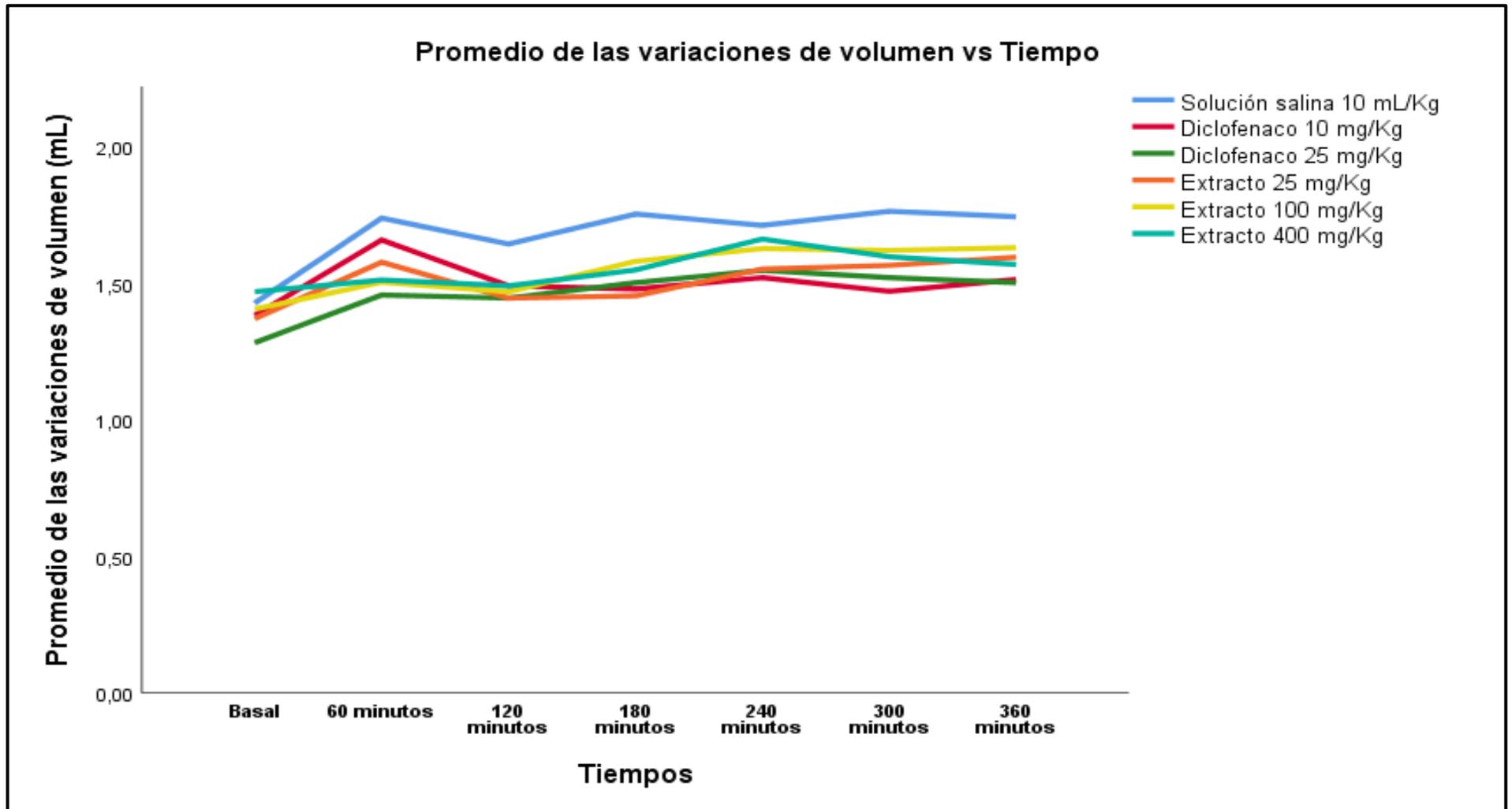


Figura 14. Promedios de las variaciones de porcentaje de volumen vs Tiempo.

5.6. Toxicidad aguda oral DL50

Tabla 17. Resumen del Test de Irwin*

Actividad	TIEMPO																										
	30 min	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	9h	10h	11h	12h	1 d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	11d	12d	13d	14d	
R1M	Actividad espontánea	2	2	0	1	1	1	1	1	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	Grooming	3	1	1	1	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	Actividad motora	2	2	2	2	2	3	3	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	Analgesia	VN	2	2	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	Respuesta al dolor	VN	2	2	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
R2M	Actividad espontánea	1	2	1	1	1	0	1	1	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Grooming	2	VN	VN	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Actividad motora	3	2	1	0	1	1	1	1	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Analgesia	1	1	3	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	Respuesta al dolor	3	3	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
R3M	Actividad espontánea	3	1	0	2	1	1	1	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Grooming	VN	VN	1	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Actividad motora	3	2	1	2	1	2	1	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Analgesia	VN	1	1	2	3	2	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Respuesta al dolor	VN	3	3	2	1	2	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
R1H	Actividad espontánea	2	1	0	1	1	1	2	1	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Grooming	3	VN	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Actividad motora	2	3	1	1	1	1	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Analgesia	VN	1	1	3	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Respuesta al dolor	VN	3	3	1	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
R2H	Actividad espontánea	2	2	0	1	1	1	1	1	2	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Grooming	4	VN	VN	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Actividad motora	2	2	1	2	1	1	1	2	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Analgesia	VN	2	2	2	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Respuesta al dolor	VN	2	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
R3H	Actividad espontánea	2	2	0	1	2	1	1	1	2	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Grooming	4	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN								
	Actividad motora	2	1	2	2	2	2	2	2	3	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Analgesia	VN	1	1	2	2	1	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	
	Respuesta al dolor	VN	3	3	2	2	3	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	

Escala numérica del 0 al 8. VN (valores Normales). Actividad espontánea, VN: 4; grooming, VN: 0; actividad motora, VN: 4; analgesia, VN: 0; respuesta al dolor, VN: 4.

*Se reportan solo los resultados evidenciados en el comportamiento y función fisiológica según el test de Irwin.

VI. DISCUSIÓN

Las hojas, corteza, semillas y raíces de la especie *Moringa oleifera* Lam. son empleadas tradicionalmente por la población de Bagua para múltiples propósitos medicinales, especialmente como antiinflamatorio, sin embargo, no se cuenta con suficiente información científica que respalde dicho efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético que se les atribuye a las semillas de *Moringa oleifera* Lam. Por lo tanto, este estudio sirvió como soporte para comprobar si las semillas de *Moringa oleifera* Lam. poseen los efectos mencionados.

Los métodos de extracción se basan en las solubilidades de los compuestos que se encuentran en el material vegetal, por lo que se decidió preparar un extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. en la proporción de 70:30 alcohol y agua, debido a que estudios anteriores demostraron que la extracción con agua y alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios de mediana y alta polaridad como también resinas^{49,50}.

En la detección de metabolitos secundarios por medio de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. (Tabla 11); se encontraron alcaloides, fenoles, triterpenos, esteroides, taninos, entre otros; los cuales se clasifican en: reacción muy evidente y evidente, y de acuerdo a Lock⁵¹, con la presencia de estos metabolitos secundarios en el extracto, se esperaría que éste extracto tuviese actividad antiinflamatoria, antinociceptiva, antitumoral o antimicrobiana^{34,35}. Resultados similares encontró García F.⁵²; demostrando por HPTLC la presencia de compuestos en mayor cantidad de tipo saponina, terpenoides, ésteres y compuestos lipofílicos, y en menor cantidad fenoles y flavonoles de los extractos acuosos y etanólicos de semillas de *Moringa oleifera* Lam., mientras que el hidrato de rutina solo estuvo presente en los extractos acuosos; relacionando estos compuestos con actividad antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética, antimicrobiana y antifúngica.

Asimismo, Dhakad *et. al.*¹³, mostró los constituyentes fitoquímicos aislados de diferentes partes de la planta *Moringa oleifera* Lam. siendo los glucosinolatos e isotiocianatos, alcaloides y esteroides (niacimicina, β -sitosterol), flavonoides (Quercetin-3-O-glucoside), saponinas y fenoles los constituyentes más predominantes en las semillas.

En la determinación del efecto antipirético, mediante la inducción de pirexia por levadura de cerveza, se observó que existe un marcado aumento de la temperatura (mayor a 1.5 °C), en todos los grupos luego de 4 horas de la administración de la levadura de cerveza; sin embargo, en las posteriores mediciones se pudo apreciar que las temperaturas siguieron en aumento a pesar de que ya se habían administrado los extractos o el paracetamol, según correspondía. *Dangarembizi et. al.*⁵³, nos comenta que existe un marcado incremento de la síntesis de citoquinas proinflamatorias, enzimas claves que sintetizan prostaglandinas y factores de transcripción inflamatorios, entre las 2 y 72 horas luego de la administración subcutánea de levadura de cerveza y que el pico de la fiebre se encontraría a las 8 horas después de la administración de la levadura de cerveza, en nuestro estudio esto correspondió a las 4 horas postratamiento^{54,55}.

El análisis estadístico evidenció el efecto antipirético creciente del paracetamol a las 1 y 2 horas postratamiento; por otro lado, los extractos también evidenciaron efecto antipirético a las 3 horas postratamiento, para todas las dosis del extracto (25 mg/Kg, 100 mg/Kg y 400 mg/Kg), y a las 4 horas para las dosis de 100 mg/Kg y 400 mg/Kg. El efecto antipirético del paracetamol se daría por el bloqueo de los pirógenos en la región preóptica del hipotálamo para la formación de la PGE₂. Según *Bhattacharya et. al.*^{55,56}, el efecto de los extractos de *Moringa oleifera* Lam. podrían reducir la pirexia mediante la reducción de la concentración de PGE₂ en el hipotálamo, por interrupción de los pasos que conectan la inflamación periférica con la producción central de PGE₂ o por ambos mecanismos.

En el estudio de Patel *et.al.*, se observó que los componentes químicos que podrían estar involucrados en la actividad antipirética del extracto de *Moringa oleifera* Lam. y que se observaron en los resultados de la marcha fitoquímica serían los fenoles y taninos⁵⁷.

Los resultados de la experimentación del ensayo del efecto analgésico del extracto de *Moringa oleifera*, que se pueden apreciar en la Tabla 19, nos indicaron que existen diferencias estadísticamente significativas a los 60 minutos postratamiento ($p < 0.05$), por lo que se llevó a cabo la prueba de Tukey y se determinó que el extracto de 400 mg/Kg (4.51 %) y tramadol 20 mg/Kg (5.16%) serían los grupos que poseen efecto analgésico. Si bien se evidenció el efecto analgésico del extracto de *Moringa oleifera* Lam. de 400 mg/Kg a los 60 minutos, esto difiere con lo enunciado en la investigación de *Bhattacharya A. et. al*⁵⁸, en el cual determinaron el efecto analgésico con la dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/Kg del extracto etanólico, utilizando el método del Hot Plate en ratones albinos. Los resultados encontrados indican que se observa el efecto analgésico desde los 30 minutos hasta los 120 minutos en todos los extractos administrados y con un mayor efecto en la dosis 400 mg/Kg, mostrando el segundo mayor efecto analgésico de todos los grupos, solo por debajo del mostrado por el estándar (tramadol)⁴². Por otro lado, *Sutar N. et al*, determinaron el efecto analgésico de la *Moringa oleifera* por el método de Hot Plate, pero en este caso utilizaron las semillas, en distintos vehículos: Alcohol, éter, acetato de etilo, éter dietílico, n-Butanol, aspirina (estándar) y solución salina, y el tiempo de experimentación solo se realizó hasta los 90 minutos postratamiento. Los resultados mostraron que, de todos los grupos, el extracto alcohólico (30 mg/Kg) es el que mostró un mayor efecto analgésico, similar al mostrado por el estándar de aspirina de dosis 25 mg/Kg durante todas las mediciones hasta los 90 minutos⁴⁶. Otro estudio, llevado a cabo por Jayabharathi *et. al.*⁴⁵, en el que se utilizó *Moringa concanensis* (otra especie del mismo género *Moringa*) a concentración de 200 mg/Kg, mostró efecto analgésico el cual puede estar relacionado con la prevención de la síntesis de prostaglandinas y con ello la mitigación del dolor.

El efecto analgésico del extracto de *Moringa oleifera* a los 60 minutos postratamiento podría estar relacionado con los taninos y alcaloides, los cuales fueron identificados en la marcha fitoquímica, conocidos por poseer efecto analgésico. El mecanismo de acción por el cual se daría esta actividad estaría relacionado con la inhibición de las prostaglandinas y la acción a nivel de receptores centrales del dolor⁵⁸.

El tercer efecto farmacológico determinado en el presente trabajo fue el efecto antiinflamatorio del extracto de *Moringa oleifera* llevado a cabo por el método de edema de pata inducido por Λ -carragenina^{59,60}.

En la figura N° 13, todos los grupos evidenciaron un aumento en el volumen del edema de la pata en la primera hora, mucho más evidente para el grupo con solución salina, respecto a los demás grupos. Este desarrollo del edema es provocado por varios mediadores que actúan en secuencia para producir la respuesta inflamatoria. Entre estos mediadores tenemos a la histamina, serotonina y bradicinina en la fase temprana de inflamación por Λ -carragenina; por otro lado, la segunda fase de la inflamación estaría mediada por las prostaglandinas, otro mediador importante está relacionado con la producción de óxido nítrico en ambas fases de la inflamación⁶¹.

Como se observa en la tabla 20 y la figura N° 13, los 2 grupos de diclofenaco y los 3 grupos de extracto de *Moringa oleifera* mostraron porcentajes de inhibición de edema significativos con respecto al grupo con solución salina en los todos los tiempos evaluados. A los 120 minutos de la administración de la Λ -carragenina (para inducir la inflamación), para el caso del diclofenaco, el efecto antiinflamatorio estaría relacionado a la acción de los AINEs en la segunda fase de la inflamación, esta fase está mediada por las prostaglandinas; sin embargo, se observó un porcentaje de inhibición de edema de todos los extractos respecto al grupo de solución salina a los distintos tiempos, esto podría atribuirse a una acción a nivel de los mediadores de la primera fase y/o a nivel de la producción de óxido nítrico^{61,62}. Cabe necesario resaltar que entre las dosis de 25, 100 y 400 mg/Kg de extracto de *Moringa oleifera*, el extracto de 25 mg/Kg mostró un efecto antiinflamatorio mayor que los extractos de 100 mg/Kg y 400 mg/Kg, desde las 2 horas hasta las 5 horas, solo siendo superado a las

6 horas por el extracto de 400 mg/Kg, siendo un resultado distinto al encontrado por *Martínez-González et. al*, en el cual los extractos presentaban mayor efecto antiinflamatorio en dosis mayores (100 y 300 mg/Kg)⁴².

Durante la evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. a dosis de 2000 mg/Kg; la totalidad de los animales en ambos grupos no presentaron síntomas o signos tóxicos que podrían concluir en muerte. Los animales de experimentación fueron monitorizados por el test de Irwin (Tabla 17); en este periodo se percibió que los animales de experimentación mostraron una conducta normal durante los 14 días de observación, concordando con *Guaycha N. et al.*⁶³ los cuales mencionan que las semillas de *Moringa oleifera* no presentan efectos tóxicos como resultados de ensayos de toxicidad crónica y aguda.

Conforme a los resultados obtenidos y en relación con la OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 423⁶⁴; el extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. se ubica en la categoría 5 dentro de la clasificación de categorías de peligro de toxicidad aguda y estimaciones de la toxicidad aguda (ETA) del Sistema Global Armonizado (GHS)⁶⁵.

VII. CONCLUSIONES

1. En el extracto hidroalcohólico obtenido, se encontraron alcaloides, lactonas, aminoácidos, esteroides, taninos, triterpenos, azúcares reductores y fenoles.
2. Con las dosis de 25, 100 y 400 mg/Kg presentaron efecto antipirético, encontrando el mayor efecto a 400 mg/Kg a las 3 horas.
3. La dosis de 400 mg/Kg del extracto hidroalcohólico fue la única dosis que presentó efecto analgésico.
4. Las dosis de 25, 100 y 400 mg/Kg extracto hidroalcohólico presentaron efecto antiinflamatorio, con un mayor efecto a la dosis de 25 mg/Kg.
5. No se observó toxicidad aguda (DL50) para la dosis de 2000 mg/Kg del extracto hidroalcohólico.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar ensayos complementarios para confirmar la presencia de los metabolitos secundarios identificados en la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.
- Realizar investigaciones adicionales para determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. que posee el mayor efecto antipirético y antiinflamatorio; así mismo determinar qué componente del extracto es el responsable de los efectos mencionados.
- Se recomienda investigaciones farmacológicas a nivel molecular para determinar el mecanismo de acción de los posibles metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* Lam.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. 2019, Lima.
2. De Arco J. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico sobre el dolor. *Revista Farmacia profesional*. 2015; 20(1): 36 -43.
3. González M, Padrón A. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXI. *Rev. Habanera de Ciencias Médicas*. 2019;18(1): 30- 44.
4. Hermoza-Moquillaza R, et al. Automedicación en un distrito de Lima Metropolitana, Perú. *Rev Med Hered*. 2016; 27: 15-21.
5. Alegria J. Prevalencia del uso de antiinflamatorios no esteroideos en la población del centro poblado Año Nuevo. Comas – Lima, 2014 [Pregrado]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2014, Lima.
6. Mendoza L, Salvatierra G, Frisancho O. Perfil del consumidor de antiinflamatorios no esteroides en Chiclayo y Cajamarca, Perú. *Act Med Per*. 2008; 25(4): 216-219.
7. Izquierdo Y. Prevalencia del uso de antiinflamatorios no esteroideos en pobladores de Winchazao sector III Distrito de la Esperanza – Trujillo. Abril – agosto 2017 [Pregrado]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018, Trujillo.
8. Benitez M. Aprovechamiento poscosecha de la moringa (*Moringa oleifera*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 2012; 13(2): 171-174.
9. Kumar B, Kumar H, Gidwani B. Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Pharmacopuncture* 2017;20(3):194-200
10. Rabbani, et al. Pré-embebição em sementes de moringa. *Scientia Plena, Sergipe*. 2013; 9(5): 1-8.
11. Velázquez M, Peón I, Zepeda R, Jimenez M. Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine. *Rev. Chapingo Serie Horticultura*. 2015; 22(2): 95 – 116.

12. Ccasa R, Castillo R. Aislado proteico y efecto antioxidante de la Moringa (*Monga oleifera Lam*) para la elaboración de una bebida funcional [Tesis de grado]. Puno, Universidad Nacional del Altiplano; 2017.
13. Dhakad A, Ikram M, Sharma S, Khan S, Pandey V, Singh A. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy Research*. 2019:1–34.
14. Leone A, et al. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *Int. J. Mol. Sci*. 2015; 16(1): 12791 – 12835.
15. Argente H. Alvarez M. Semiología médica: Fisiopatología, Semiología y Propedéutica. 1era edición. Editorial médica Panamericana. Argentina; 2005. Pag: 72 – 77
16. Nieuwenhuys R. Voogd J. Van Huijzen C. The human central nervous system. 4ta edición. Editorial Médica Panamericana. Murcia; 2009. Pag: 307
17. Bennet J., Dolin R., Blaser M. Principios y práctica de enfermedades infecciosas de Mandell, Douglas y Bennett. 8va edición. Editorial Elsevier, 2016. Pag. 738-742.
18. Perez J. Manual de patología general. 6ta edición. Editorial Elsevier. Barcelona; 2006. Pag: 19 -21
19. Arias J. Aller A. Arias J. Lorente L. Fisiopatología Quirúrgica. 1era edición. Editorial Tebar; 1999. Pag: 290 – 299; 406 – 408.
20. Feria M. Fármacos analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. En: Flores J. Farmacología Humana. 6ta edición. Barcelona: Editorial Elsevier; 2014. Pag: 348 – 365; 826 – 834.
21. Rang P. Ritter M. Flower J. Henderson G. Rang y Dale Farmacología. 8va edición. Barcelona: Editorial Elsevier; 2016. Pag: 317 – 324.
22. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Lizasoain I, Moro M, Portolés A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 19 edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2018. p.498-518.
23. Toro V. Evaluación de la actividad analgésica aguda y crónica de *Phytolacca dioica*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Santiago. Universidad de Chile; 2009.

24. Carbonell J. semiología de las enfermedades reumáticas. Editorial. Médica Panamericana. Madrid; 2006. Pag 3 – 26.
25. Kasper D., et al. Principios de medicina interna de Harrison. 19ª edición. Editorial McGraw-Hill. México D.F., 2016. Pag. 87-95.
26. Villoria M. Dolor crónico. Editorial Aran. España; 2007. Pag 7 – 20.
27. OMS. Escalera analgésica de la OMS y los fármacos del dolor. 2017, [citado el 10 de enero del 2021]. Disponible en: <http://www.1aria.com/contenido/dolor/programa-dolor/dolor-tratamiento/dolor-tratamiento-escalera-oms-farmacos>
28. Katzung B. Farmacología básica y clínica. 14 edición. Editorial Mc Graw Hill. Mexico; 2018. Pag 643 -660.
29. Brunton L, Chabner B, Knollmann B. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 13a ed. México D.F.: Mc Graw Hill; 2018. p. 685 – 690.
30. León M. Alvarado A. De Armas. Miranda L. Varens. Cuestas J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Rev. Finlay.2015; 5 (1): 2221-2434.
31. Lopez T, Patiño P, Montoya C. Inmunología. Una ciencia activa. 2da ed. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín; 2009. Pag 90 -111.
32. Florez J. Esteroides corticales y antiinflamatorios esteroideos. En: Flores J. Farmacología Humana. 6ta edición. Barcelona: Editorial Elsevier; 2014. Pag: 826 – 834.
33. Castillo E, Martínez I. Manual de Fitoterapia. 1ª ed. Barcelona: Editorial Elsevier Masson; 2007. Pag 38 – 45.
34. Kuklinski C. Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural. 1a ed. Barcelona: Editorial Omega; 2000.p. 146 – 151, 167-170, 177-183, 206-209.
35. Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica Plantas Medicinales. 2a ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 2001.p.653 – 761, 773-775.
36. Ochoa L, Sarmiento A. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L. f.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica [tesis]. Bogotá: Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2018.

37. Naresh K, Nidhi G. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*. 2019; (24): 1 – 9.
38. Saleem A, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. *South African Journal of Botany*. 2020; 128: 246-256.
39. Bajpai A, et al. To study analgesic, hypoglycemic and hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* leaf extract in albino Wistar rats. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2019; 9(4A): 730-736.
40. Cui C., Chen S., Wang X., Yuan G., Jiang F., Chen X., Wang L. Characterization of *Moringa oleifera* roots polysaccharide MRP-1 with anti-inflammatory effect. *Int J Biol Macromol*. 2019; 132: 844-851.
41. Yong-Bing Xu , Gui-Lin Chen, Ming-Quan Guo. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and Their Correlations with Flavonoids. *University of Chinese Academy of Sciences*. 2019; 8: 296.
42. Martínez L., Martínez E., González M., Ventura R., Díaz I. *Moringa oleifera*, a species with potential analgesic and anti-inflammatory activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017; 87: 482–488.
43. Chimedza A. et al. Biochemical characterization and antiinflammatory properties of an isothiocyanateenriched moringa (*Moringa oleifera*) seed Extract. *Plos ONE*. Institute of Biochemistry and Biotechnology. 2017.
44. Ayon B., Rasmirekha B., Divya A., Pratap K. Sanjay K., Sudhanshu S. Antipyretic effect of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves on albino rats. *Tanta Medical Journal*. 2014; 42(2):74–78.
45. Jayabharathi M., Chitra M. Evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Moringa concanensis* Nimmo. *J. Chem. Pharm. Res*, 2011, 3(2):802-806.
46. Sutar N, et al. Analgesic activity of seed of *Moringa oleifera* Lam. *International Journal of Green Pharmacy*. 2008, 423: 108-110.
47. Hukkeri V., Nagathan C., Karadi R., Patil B. Antipyretic and Wound Healing Activities of *Moringa oleifera* in Rats. *Indian. J. Pharm. Sci*. 2006; 68(1):124-126.

48. Ishola I, et al. Mechanisms of Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Fruit Extract in Rodents. *Journal of Medicinal Food*. 2014; 17(12): 1375 - 1382.
49. Sierra M, et al. *Productos naturales: Metabolitos secundarios y aceites esenciales*. 1ª ed. Bogotá: Fundación Universitaria Agraria de Colombia; 2018. p. 21 – 37.
50. Kumari P, et al. Phytochemical Screening of Selected Medicinal Plants for Secondary Metabolites. *Int. J. Life. Sci. Scienti*. 2017; 3(4): 1151-1157.
51. Lock O. *Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de producto naturales*. 2a ed. Lima: PUCP Fondo Editorial;1994. p. 111-126, 211-227.
52. García F. *Estudio fitoquímico de semillas de Moringa oleifera y su aplicación contra Botrytis cinérea in vitro [Tesis de maestría]*. Michoacán: Instituto Politécnico Nacional; 2018.
53. Dangarembizi R, et al. Brewer yeast is a potent inducer of fever, sickness behavior and inflammation within the brain. *Brain, Behavior and Immunity*. 2018, (68):211-223.
54. Zhang X, et al. The potential Antipyretic mechanism of *Gardeniae fructus* and its heat-processed products with plasma metabolomics using rats with yeast-induced fever. *Frontiers in Pharmacology*. 2019, (10):1-12.
55. Bhattacharya A, et al. Antipyretic effect of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves on albino rats. *Tanta Medical journal*. 2014 42(2): 74-78.
56. Bhattacharya A, et al. A review of the phytochemical and pharmacological characteristics of *Moringa oleifera*. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2018 (10): 181-191.
57. Patel N, et al. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*. 4(2):27-34.
58. Bhattacharya A, et al. Analgesic effect of ethanolic leaf extract of *Moringa oleifera* on albino mice. *India Journal of Pain*. 2014, 28(2): 89-94.
59. Sugishita E, et al. Anti-Inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J Pharm. Dyn*. 1981, 4:565-575.
60. Henriques M, et al. Mouse paw edema. A new model for inflammation? *Brazilian J Med Biol Res*. 1987, 20: 243-249.

61. Necas J, Bartosikova L. Carrageenam: a review. *Veterinarni Medicina*. 2013, 58 (4): 187-205.
62. Ninan J, et al. Anti-Inflammatory efficacy of methanolic extracto of *Muntingia calabura* L. leaves in carrageenan induce paw edema model. *Pathophysiology*. 2019, 1-8.
63. Guaycha N., et al. Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hoja, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) *Revista Ciencia Unemi*, 2017; 10(22): 60-68.
64. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). *Guideline for testing of chemicals: Acute oral toxicity – Acute toxic class method N° 423*, Paris; 2001.
65. Naciones Unidas. *Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA)*. 4ª ed. New York; 2011

X. ANEXOS

Anexo 1. Constancia taxonómica de la planta

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ CONSULTOR BOTÁNICO C. B. P. N° 3796 Tel: 0188852 RPM 963689079 Email: joricande@gmail.com		
CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA		
JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 - INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.		
CERTIFICA:		
Que, LIMAY DE LA CRUZ, EDWIN CARLOS Y TEVES GUZMAN, KATERIN, con grado académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica, otorgado por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; con el fin de desarrollar la tesis titulada: Determinación in-vivo del efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Moringa oleifera</i> en ratas Holtzman, y optar el título de Químico Farmacéutico, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta cultivada en la provincia de Bagua Grande, departamento Amazonas, donde es conocida con el nombre común de "moringa", la muestra, ha sido determinada científicamente como <i>Moringa oleifera</i> Lam. Según el Sistema de clasificación APG, sistema moderno de clasificación de las angiospermas publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016) comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.		
CATEGORÍAS	SISTEMA APG-2016	SISTEMA DE CRONQUIST 1981
REINO	Plantae	Plantae
DIVISIÓN	Angiospermae	Magnoliophyta
CLASE	Equisetopsida	Magnoliopsida
SUBCLASE	Magnoliidae	Dilleniidae
SUPERORDEN	Rosanae
ORDEN	Brassicales	Capparales
FAMILIA	Moringaceae	Moringaceae
GENERO	<i>Moringa</i>	<i>Moringa</i>
ESPECIE	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	<i>Moringa oleifera</i> Lam.

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 22 de mayo del 2020

José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07 / e-mail: joricampos@yahoo.es

Anexo 2. Certificado sanitario de los animales emitido por el Instituto Nacional de Salud

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 092 - 2020	
Producto : Rata albina	Lote N° : M - 39 - 2020
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 90
Cepa : Holtzman	Edad : 2.5 a 3 meses.
Peso : 250 a 350 gr.	Sexo : Macho.
Guía de Remisión : 038956	Destino : Limay de la Cruz, Edwin Carlos
Fecha : 23-09-2020	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Jorge Ruiz Alarcón Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 23 de Setiembre del 2020</p> <p>(Fecha de emisión del certificado)</p>	
<p>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	 M.V. Jorge Ruiz Alarcón. C.M.V.P. 5052

Anexo 3. Marcha fitoquímica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00399-CPF-2021

ORDEN DE ANÁLISIS : 05993/2021
SOLICITADO POR : EDWIN CARLOS LIMAY DE LA CRUZ
KATERIN TEVES GUZMAN
MUESTRA : EXTRACTO HIDROALCOHOLICO *Moringa oleifera*
Lam
FECHA DE RECEPCIÓN : 10 de Mayo del 2021

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba Cualitativa	Cualitativo	-
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	++
	Reacción de Mayer	Cualitativo	+
	Reacción de Wagner	Cualitativo	++
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	+
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	-
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	++
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+++
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+++
AZUCARES REDUCTORES	Reacción de fehling	Cualitativo	++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	++

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



Leyenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- + : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 02 de Junio del 2021

Dr. Eduardo Flores Juárez
Gerente General de CENPROFARMA



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



Anexo 4. Obtención del extracto seco de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 15. Molienda de las semillas de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 16. Muestra en polvo de semillas de *Moringa oleifera* Lam.

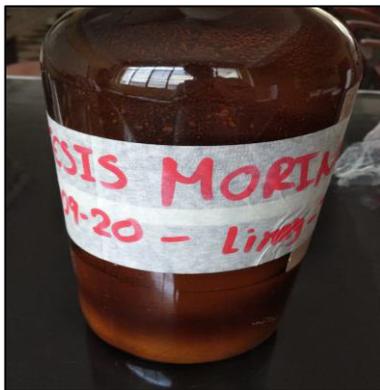


Figura 17. Extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 18. Filtrado del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 19. Secado del extracto hidroalcohólico de semillas de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 20. Extracto seco de *Moringa oleifera* Lam.

Anexo 5. Determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 21. Animales usados en la experimentación.



Figura 22. Administración por vía subcutánea de la suspensión de levadura de cerveza

Anexo 6. Determinación del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 23. Dosis de los extractos de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 24. Medición en el equipo Hot Plate LE 7406 Panlab

Anexo 7. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 25. Calibración del Pletismometro digital PANLAB



Figura 26. Administración de λ -carragenina por vía subplantar.



Figura 27. Medición del volumen de la pata posterior derecha

Anexo 8. Resultados de análisis estadístico de la actividad antipirética

Tabla 18. Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de temperatura en la determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

T	Grupo	N	Promedio	Desviación Estándar	ANOVA	Prueba de Tukey (Comparaciones múltiples)				
						Solución salina 10 mL/Kg	Paracetamol 100 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
Basal	Solución salina 10 mL/Kg	6	35,43	0,66	0,27	NS	NS	NS	NS	NS
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	35,28	0,95		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	35,48	1,39		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	36,08	0,52		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	36,32	0,96		NS	NS	NS	NS	NS
4 horas posterior a levadura	Solución salina 10 mL/Kg	6	37,40	0,83	0,44	NS	NS	NS	NS	NS
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	37,57	0,33		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	37,13	0,52		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	37,57	0,24		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	37,60	0,24		NS	NS	NS	NS	NS
1 hora postratamiento	Solución salina 10 mL/Kg	6	37,87	0,73	0,20	NS	NS	NS	NS	NS
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	37,20	0,71		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	37,20	0,38		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	37,50	0,23		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	37,38	0,42		NS	NS	NS	NS	NS
2 horas postratamiento	Solución salina 10 mL/Kg	6	37,97	0,43	0,01*	NS	0,004*	NS	NS	NS
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	37,05	0,62		0,004*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	37,35	0,27		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	37,37	0,26		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	37,32	0,29		NS	NS	NS	NS	NS

Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de temperatura en la determinación del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. (continuación)

T	Grupo	N	Promedio	Desviación Estándar	ANOVA	Prueba de Tukey (Comparaciones múltiples)				
						Solución salina 10 mL/Kg	Paracetamol 100 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
3 horas postratamiento	Solución salina 10 mL/Kg	6	37,95	0,12	0,00*	NS	0,001*	0,028*	0,004*	0,000*
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	37,38	0,17		0,001*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	37,55	0,27		0,028*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	37,45	0,23		0,004*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	37,30	0,25		0,000*	NS	NS	NS	NS
4 horas postratamiento	Solución salina 10 mL/Kg	6	37,97	0,23	0,00*	NS	0,021*	NS	0,010*	0,005*
	Paracetamol 100 mg/Kg	6	37,42	0,42		0,021*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	37,62	0,30		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	37,37	0,18		0,010*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	37,32	0,25		0,005*	NS	NS	NS	NS

Luego de realizarse la prueba ANOVA para determinar si existen diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey y se evidenció que a todas las dosis del extracto, a las 3 y 4 horas postratamiento, los extractos 100 y 400 mg/Kg poseen efecto antipirético.

Anexo 9: Resultados de análisis estadístico de la actividad analgésica

Tabla 19. Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de porcentaje de analgesia en la determinación del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleífera* Lam.

T	Grupo	N	Promedio	Desviación Estándar	ANOVA	Prueba de Tukey (Comparaciones múltiples)				
						Solución salina 10 mL/Kg	Tramadol 20 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
30'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-4,76	6,02	0,008*	NS	0,018*	NS	NS	NS
	Tramadol 20 mg/Kg	6	5,30	6,42		0,018*	NS	0,024*	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	-4,42	4,00		NS	0,024*	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	-0,86	3,46		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	2,70	5,25		NS	NS	NS	NS	NS
60'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-6,33	8,90	0,019*	NS	0,025*	NS	NS	0,038*
	Tramadol 20 mg/Kg	6	5,16	7,29		0,025*	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	-1,18	3,43		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	2,62	4,52		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	4,51	4,85		0,038*	NS	NS	NS	NS
120'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-1,98	3,44	0,852	NS	NS	NS	NS	NS
	Tramadol 20 mg/Kg	6	-0,88	7,60		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	-1,93	2,73		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	0,16	3,80		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	0,13	2,68		NS	NS	NS	NS	NS
180'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-3,55	2,16	0,105	NS	NS	NS	NS	NS
	Tramadol 20 mg/Kg	6	-3,24	7,34		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	-4,07	2,57		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	1,84	1,67		NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	-0,99	3,98		NS	NS	NS	NS	NS

* p<0.05 existe diferencia significativa.

NS: no significativo.

Luego de determinarse, por medio del análisis ANOVA, si existen diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey y se observa que sí existe efecto analgésico en el extracto de 400 mg/Kg a los 60 minutos.

Anexo 10: Resultados de análisis estadístico de la actividad antiinflamatoria

Tabla 20. Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de porcentaje de inhibición de edema en la determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.

T	Grupo	N	Promedio	Desviación Estándar	ANOVA	Prueba de Tukey (Comparaciones múltiples)					
						Solución salina 10 mL/Kg	Diclofenaco 10 mg/Kg	Diclofenaco 25 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
60'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-22,25	13,81	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	4,60	3,71		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	16,19	6,01		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	9,29	7,36		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	13,51	4,11		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	13,03	5,88		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
120'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-15,09	8,12	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	9,60	3,50		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	12,33	3,71		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	12,32	7,88		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	10,91	4,77		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	9,59	4,36		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
180'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-22,80	8,89	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	15,91	5,12		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	14,58	2,84		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	17,33	4,70		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	10,13	6,34		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	11,93	3,35		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS

* p<0.05 existe diferencia significativa.

NS: no significativo.

Análisis estadístico (ANOVA y test de Tukey) de los promedios de porcentaje de inhibición de edema en la determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. (Continuación)

T	Grupo	N	Promedio	Desviación Estándar	ANOVA	Prueba de Tukey (Comparaciones múltiples)					
						Solución salina 10 mL/Kg	Diclofenaco 10 mg/Kg	Diclofenaco 25 mg/Kg	Extracto 25 mg/Kg	Extracto 100 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
240'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-19,79	9,80	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	11,02	4,64		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	9,45	3,40		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	9,16	3,40		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	4,78	4,04		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	2,73	6,34		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
300'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-23,48	7,60	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	16,86	5,40		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	14,03	3,34		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	11,49	7,21		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	8,38	3,38		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	9,70	4,37		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
360'	Solución salina 10 mL/Kg	6	-22,16	5,26	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
	Diclofenaco 10 mg/Kg	6	13,43	3,48		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Diclofenaco 25 mg/Kg	6	14,10	4,50		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 25 mg/Kg	6	8,76	5,45		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 100 mg/Kg	6	6,76	3,67		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS
	Extracto 400 mg/Kg	6	10,29	2,60		0,000*	NS	NS	NS	NS	NS

* p<0.05 existe diferencia significativa.

NS: no significativo.

Luego de determinarse, por medio del análisis ANOVA si existen diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey y se observa que se existe efecto antiinflamatorio en todas las dosis del extracto hidroalcohólico para todos los tiempos analizados con respecto a la solución salina.