



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**EFFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE  
*Clinopodium pulchellum* (PANISARA) SOBRE LA  
INFLAMACIÓN EN MIEMBROS INFERIORES DE *Mus  
musculus var. Albinus*. INDUCIDA CON CARRAGENINA**

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

AUTORA

**GERMAN REYES, ADALID**

**ORCID: 0000-0002-5035-3811**

ASESOR

**LEAL VERA, CESAR ALFREDO**

**ORCID: 0000-0003-4125-3381**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2021**

## **EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTORA**

Germán Reyes Adalid

ORCID: 0000-0002-5035-3811

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado  
Trujillo, Perú.

### **ASESOR**

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la  
Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

### **JURADO**

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

ARTEAGA REVILLA, NILDA MARÍA

ORCID: 0000-0002-7897-8151

MATOS INGA, MATILDE ANAIS

ORCID: 0000-0002-3999-8491

**JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Mgr. Teodoro Walter Ramírez Romero

**Presidente**

Mgr. Nilda María Arteaga Revilla.

**Miembro**

Mgr. Matilde Anais Matos Inga.

**Miembro**

Mgr. César Alfredo Leal Vera

**ASESOR**

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a Dios por haber permitido  
en esta oportunidad realizar mis sueños  
que tanto anhelaba.*

*A mis padres por haberme forjado como  
persona que soy. Mucho de mis logros se los  
debo a ustedes, entre los que se incluye este. Me  
formaron con reglas y con algunas libertades,  
pero al final de cuentas me motivaron  
constantemente para alcanzar mis anhelos.*

*A mis maestros por brindarme su tiempo  
y conocimientos para formarme como una  
buena profesional y de antemano a la  
Universidad Católica los Ángeles de  
Chimbote.*

GRACIAS

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.*

*A mis padres Anselmo y Rosmeri quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir mis metas, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre*

**GRACIAS.**

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental de enfoque cuantitativo tuvo el objetivo de determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (*Panisara*) en *Mus musculus* var. *albinus*. con inflamación inducida por carragenina. La especie vegetal se recolectó en el departamento de La Libertad, el extracto se obtuvo mediante la técnica de maceración en etanol usando 100g de las hojas secas *Clinopodium pulchellum* (*Panisara*) con 150 ml de etanol. Se utilizaron 24 *Mus musculus* en 4 grupos, conformado por 6 ratones, de la siguiente manera: Grupo blanco (0.05ml agua destilada), control (0.05ml de carragenina 2%), estándar farmacológico (diclofenaco 50mg/kg), extracto de *Clinopodium pulchellum* *Panisara* (0.05ml carragenina 2% S.C+ extracto 200mg/kg I.P), se midió la longitud inflamatoria a la 01, 03 y 05 horas utilizando un vernier electrónico. Los resultados obtenidos muestran la variación del diámetro externo producto de la inflamación para cada grupo de estudio, fueron evaluados mediante la prueba Anova nivel ( $P < 0,05$ ). Se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (*Panisara*) a las 3 horas tiene un efecto antiinflamatorio obteniendo una longitud de la inflamación de  $2.35 \pm 0.13$ mm con respecto al estándar farmacológico que es mejor a las 3h con una medición de  $2.15 \pm 0.32$  en *Mus musculus* var. *albinus*. con inflamación inducida con carragenina al 2%.

**Palabras clave:** antiinflamatorio, carragenina, extracto *Clinopodium pulchellum* (*Panisara*), farmacológico.

## ABSTRACT

The present research work, of an experimental type, with a quantitative approach, aimed to determine the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract the leaves of *Clinopodium pulchellum* (Panisara) in *Mus musculus* var. *albinus*. with carrageenan-induced inflammation. The plant species was collected in the department of La Libertad, the extract was obtained by the technique of maceration in ethanol using 100g of the dry leaves *Clinopodium pulchellum* (Panisara) with 150 ml of ethanol. 24 *Mus musculus* were used in 4 groups, consisting of 6 mice, as follows: White group (0.05ml distilled water), control (0.05ml carrageenan 2%), pharmacological standard (diclofenac 50mg / kg), *Clinopodium* extract pulchellum Panisara (0.05ml carrageenan 2% S.C + extract 200mg / kg IP), the inflammatory length was measured at 01, 03 and 05 hours using an electronic vernier. The results obtained show the variation of the external diameter as a result of inflammation for each study group, were evaluated using the Anova level test ( $P < 0.05$ ). It is concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Clinopodium pulchellum* (Panisara) at 3 hours has an anti-inflammatory effect, obtaining an inflammation length of  $2.35 \pm 0.13$ mm with respect to the pharmacological standard that is better at 3h with a measurement of  $2.15 \pm 0.32$  in *Mus musculus* var. *albinus*. with inflammation induced with 2% carrageenan.

Key words: anti-inflammatory, carrageenan, *Clinopodium pulchellum* extract (Panisara), pharmacological

## ÍNDICE

EQUIPO DE TRABAJO.....	ii
JURADO EVALUADOR DE TESIS .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
DEDICATORIA .....	v
RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
ÍNDICE .....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
I. Introducción .....	1
II. Revisión de la literatura .....	3
III. Hipótesis.....	11
IV. Metodología.....	12
4.1. Diseño de investigación.....	12
4.2. Población y muestra.....	13
4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores .....	14
4.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	15
4.5. Plan de Análisis.....	15
4.6. Matriz de consistencia .....	16
4.7. Principios Éticos .....	17
V. Resultados.....	17
5.1. Resultados.....	18
5.2. Análisis de resultados.....	19
<b>VI. Conclusiones</b> .....	22
Aspectos complementarios.....	22
Referencias Bibliográficas .....	23
Anexos.....	28



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Cuantificación la variación del diámetro externo producto de la inflamación en el miembro inferior inducida con carragenina para la determinación del efecto antiinflamatorio de <i>Clinopodium pulchellum</i> (PANISARA) en <i>Mus musculus</i> var. <i>Albinus</i> .....	<b>Pág.19</b>
--	---------------

## **I. Introducción**

La inflamación se define generalmente como una respuesta a la estimulación por patógenos invasores o señales endógenas tales como células dañadas que da como resultado la reparación del tejido o, a veces, la patología, cuando la respuesta no se controla. Sin embargo, la comprensión de los mecanismos, el contexto y el papel de la inflamación durante la respuesta inmune fisiológica y la patología evoluciona constantemente <sup>(1,2)</sup>.

Dentro de los parámetros fisiológicos de una respuesta inmune protectora, la inflamación es esencial para una inmunidad eficiente, que incluye la cicatrización del tejido y el retorno a la homeostasis. La inflamación fisiológica es autolimitada y autorregulada. Cada tejido presenta características distintivas de inflamación como resultado de procesos moleculares, inmunológicos y fisiológicos generales y locales <sup>(3,4)</sup>.

La producción de eicosanoides aumenta considerablemente durante la inflamación. Las dos vías Ciclooxygenasa (COX) y Lipooxygenasa (LO) son de particular relevancia clínica. La vía COX es el objetivo principal de los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), los medicamentos más populares utilizados para tratar el dolor, la fiebre y la inflamación, aunque sus efectos antiinflamatorios son bien conocidos, su uso a largo plazo está asociado con complicaciones gastrointestinales (GI) como la ulceración <sup>(5,6)</sup>.

La enzima COX existe en dos isozimas distintas, COX-1 y COX-2, de los cuales COX-2 se expresa principalmente en sitios de inflamación y produce eicosanoides

proinflamatorios. Por este motivo, los inhibidores selectivos de la COX-2 (COXIB) se han desarrollado como agentes antiinflamatorios para minimizar el riesgo de toxicidad gastrointestinal. Algunos inhibidores selectivos de la COX-2 han mostrado efectos secundarios cardiovasculares adversos, lo que ha provocado la retirada de rofecoxib y valdecoxib del mercado <sup>(4,5,6)</sup>.

La inhibición selectiva de COX-2 sin reducir la producción de tromboxano mediada por COX-1 podría alterar el equilibrio entre la prostaciclina y el tromboxano y promover un estado protrombótico, lo que explicaría el riesgo cardiovascular observado de COX-2 <sup>(7,8)</sup>.

Los extractos de plantas se han utilizado durante siglos como un modo popular de tratamiento para varios trastornos de la salud. Durante los últimos años, el estudio de esos extractos ha atraído la atención en diferentes campos de las ciencias especialmente como coadyuvantes en los tratamientos de enfermedades en cuyo curso se distingue el proceso inflamatorio <sup>(8,9)</sup>.

En el caso de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) los metabolitos secundarios encontrados en los ensayos fitoquímicos son compuestos fenólicos tipo quinonas, flavonoides, glicósidos y alcaloides, especialmente los flavonoides presentan una alta actividad antioxidante in vitro, la cual inhibe la fase proliferativa del proceso inflamatorio <sup>(10)</sup>.

¿Tendrá efecto el extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) sobre la inflamación en miembro inferior de *Mus* músculos var.*Albinus* inducida con carragenina?

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

- Determinar el efecto del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (PANISARA) sobre la inflamación en los miembros inferiores de *Mus musculus* var. *Albinus*. Inducida con carragenina.

### **Objetivos Específicos:**

- Cuantificar la variación del diámetro externo producto de la inflamación en los miembros inferiores inducida con carragenina para la determinación del efecto antiinflamatorio de *Clinopodium pulchellum* (PANISARA) en *Mus musculus* var. *Albinus*.

## **II. Revisión de la literatura**

### **2.1. Antecedentes**

Toche et Al , Perú 2017, presenta el estudio denominado “Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" Los objetivos fueron proponer la estructura química de componentes fenólicos aislados del extracto etanólico de hojas de *Satureja pulchella* “panisara”, quien en la actualidad presenta el nombre de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts y evaluar preliminarmente el posible efecto antioxidante de los compuestos fenólicos <sup>(11)</sup>.

Realizó una identificación fitoquímica mediante ensayos de solubilidad, tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina y espectroscopia UV/VIS. Por otro lado, se realizó un ensayo preliminar de la actividad antioxidante usando la prueba de 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH). Los resultados obtenidos fueron que se determinó que el extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” es soluble en solventes polares. Los metabolitos secundarios encontrados son compuestos fenólicos tipo flavonoides, alcaloides, quinonas y glicósidos <sup>(11)</sup>.

Se propone siete estructuras químicas de flavonoides a través del análisis de los espectros UV/Vis, y mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry y Olga Lock. Al realizar el ensayo preliminar de la actividad antioxidante usando la prueba de 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) se observó disminución de absorbancia, al aplicar el extracto frente al control. Conclusiones. Se propone la estructura química de 7 metabolitos secundarios tipo flavonas que podrían explicar una posible acción antioxidante del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” <sup>(11)</sup>.

Tapia et Al, Perú 2018 en el estudio denominado Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara” Evalúa la composición química del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara”, actividad antioxidante in vitro y la actividad antifúngica in vitro, frente a *Candida albicans*. El aceite esencial se obtuvo tratando 5 Kg de hojas en un sistema de hidrodestilación con arrastre de vapor de

agua a temperatura y presión controlada, reportándose un rendimiento de 0,58 %v/p; se realizó el análisis preliminar y las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial encontrándose los siguientes resultados: líquido oleoso y aromático, ligeramente amarillo, insoluble en agua, ligeramente soluble en metanol, soluble en etanol, nhexano y éter etílico, densidad (0,978 g/mL), pH (5,60) e índice de refracción (1,475) <sup>(12)</sup>.

En el análisis cualitativo-cuantitativo de la composición química del aceite esencial realizado por Cromatografía de Gases y Espectrofotometría de Masas (CG/EM), se identificaron 44 compuestos químicos, conformados por 15 hidrocarburos monoterpénicos, 15 monoterpenos oxigenados, 2 hidrocarburos sesquiterpénicos, 6 ésteres, 2 alcoholes cíclicos, 2 hidrocarburos cíclicos, 1 alcano y 1 compuesto heterocíclico aromático <sup>(12)</sup>.

La evaluación de la actividad antioxidante in vitro del aceite esencial se determinó utilizando los siguientes métodos: método de captación del radical DPPH y el método de captación del radical ABTS•+, los resultados indican que el aceite esencial presenta actividad antioxidante variable; por el método del DPPH resultó tener una actividad antioxidante no significativa frente al patrón estándar Trolox. Asimismo, por el método del radical ABTS•+, se obtuvo una actividad antioxidante significativa frente al estándar. La determinación de la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial, se realizó empleando el método de difusión en agar mostrando actividad significativa frente a *Candida albicans* en concentraciones de 100, 75 y 50 por ciento, utilizando la nistatina como control positivo <sup>(12)</sup>.

Carhuapoma et Al, Perú 2017, composición química, actividad antioxidante y toxicidad aguda del aceite esencial de *Satureja pulchella* “Panizara”. La *Satureja pulchella* “panizara” es una especie aromática nativa del Perú, según datos etnofarmacológicos es utilizada para solucionar problemas gastrointestinales y de las vías respiratorias. Con el objetivo de caracterizar los parámetros físico-químicos, actividad antioxidante y la toxicidad aguda del aceite esencial de *S. pulchella*, realizamos el presente trabajo. La obtención del aceite esencial fue por el método de arrastre con vapor de agua; el rendimiento se determinó por gravimetría-volumétrico; densidad, por picnometría; e índice de refracción, por refractometría <sup>(13)</sup>.

La actividad antioxidante se determinó por el método del radical DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazilo) y la toxicidad aguda por el método de Dosis Límite. Reportando un rendimiento 1,5% v/p; densidad 0,98 g/mL; índice de refracción 1,494; la actividad antioxidante es muy cercano al comportamiento del trolox, presentando una concentración media (IC50) de 7,675 µl/mL, frente al trolox, 6,48 µg/mL; la dosis letal media (DL50) es 777,19 mg/kg. Los resultados indican que el aceite esencial de *S. pulchella* posee actividad antioxidante y una ligera toxicidad aguda, dichas actividades se deben a la estructura química del aceite esencial que posee <sup>(13)</sup>.

## 2.2 Bases teóricas de la investigación

Inflamación:

La inflamación es un proceso que ocurre tejido con lesión, ya sea debido a bacterias, trauma, productos químicos, calor o cualquier otro fenómeno. Hay medicamentos que se usan para aliviar los procesos inflamatorios, que deben ser cuidadosamente evaluados, debido a que producen una variedad de efectos secundarios. Entre los efectos secundarios producidos incluir patología gastrointestinal, y más recientemente determinado un aumento de la probabilidad de ataque cardíaco o accidente cerebrovascular <sup>(11)</sup>.

La respuesta inflamatoria que conduce a la disfunción y falla de los órganos continúa siendo el principal problema después de la lesión en muchas afecciones clínicas como sepsis, quemaduras graves, pancreatitis aguda, shock hemorrágico y trauma. En términos generales, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) es una respuesta completamente normal a la lesión. Sin embargo, la activación sistémica de los leucocitos es una consecuencia directa de un SIRS y, si es excesiva, puede causar daño a órganos distantes y síndrome de disfunción de múltiples órganos (MODS). Cuando SIRS conduce a MODS y falla orgánica, la mortalidad se vuelve alta y puede ser más del 50% <sup>(11)</sup>.

Los mediadores inflamatorios, como el factor de necrosis tumoral (TNF)  $-\alpha$ , la interleucina (IL)  $-1\beta$ , la IL-6, el factor activador de plaquetas (PAF), la IL-10, el macrófago de granulocitos Factor estimulante de colonias (GM-CSF), C5a, molécula de adhesión intercelular (ICAM) -1, sustancia P, quimiocinas, VEGF, IGF-I, KGF, especies



reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) están directamente relacionados con la patogenia de la inflamación <sup>(12-14)</sup>.

Los leucotrienos (LT) y las prostaglandinas (PG) amplifican la inflamación aguda, mientras que las lipoxinas (LX) tienen acciones antiinflamatorias únicas. Los análisis temporales de estos eicosanoides en exudados clínicos y experimentales mostraron una aparición precoz coordinada de LT y PG con reclutamiento de neutrófilos polimorfonucleares (PMN). Esto fue seguido por la biosíntesis de LX, que fue concurrente con la resolución espontánea. Las PMN de la sangre periférica humana expuestas a PGE 2 (como en los exudados) cambiaron la biosíntesis de eicosanoides de LTB 4 y 5-lipoxigenasa (5-LO) predominantemente, iniciadas a LXA 4, un producto 15-LO que “detuvo” la infiltración de PMN. Estos resultados indican que los eicosanoides de la primera fase promueven un cambio a los lípidos antiinflamatorios: los perfiles funcionalmente distintos de los mediadores de lípidos cambian durante la formación de exudado agudo para "reprogramar" los PMN de exudado para promover la resolución <sup>(15)</sup>.

#### ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA:

La actividad antiinflamatoria de varias frutas, hierbas y especias en un modelo de macrófagos estimulados por lipopolisacáridos actuaron por reducción de la producción de interleucina proinflamatoria (IL) -6 o factor de necrosis tumoral (TNF) -alfa, aumento de la producción de IL-10 antiinflamatoria, o reducción de la expresión de la ciclooxigenasa-2 o del óxido nítrico sintasa inducible <sup>(15)</sup>.

## PLANTAS MEDICINALES:

La medicina tradicional, como parte esencial de las culturas, fue durante siglos la única guardiana del sistema de salud de las generaciones pasadas. Según la Organización Mundial de la Salud, alrededor del 80% de la población mundial depende hoy en día de los sistemas tradicionales de medicina para sus necesidades de salud primaria <sup>(15)</sup>.

El Perú posee 28 de los 32 climas existentes en el mundo y 84 de las 103 zonas de vida conocidas en la tierra. Es considerado uno de los 12 megadiversos con una flora variada calculada en aproximadamente 25.000 especies. Así, alrededor del 10% de la flora del mundo crece en el Perú y el 30% de estas plantas son endémicas. Se ha vuelto cada vez más claro que hay cientos de compuestos biológicamente activos, a menudo aditivos o sinérgicos, en todas nuestras plantas, alimentos, especias, hierbas, plantas medicinales y venenosas. El debate continúa sobre cómo funcionan estas plantas y cómo deben usarse. Combinando el hecho científico con los usos populares y la experiencia <sup>(10-15)</sup>.

## COMPOSICIÓN QUÍMICA

Se ha demostrado la presencia de ácido clorogénico, cafeico y ferúlico. Estos ácidos fenólicos se aislaron del extracto crudo de hojas de panisara (por ejemplo, ácido cafeico y ácido ferulico), flavonoide (quercetina) y un flavonoide no identificado, El ácido ferúlico, isómeros de ácido dicafeoilquínico y todavía un derivado no identificado de ácido clorogénico dieron una contribución significativa a la actividad de eliminación de radicales libres <sup>(15)</sup>.

## PROPIEDADES MEDICINALES

*Clinopodium pulchellum* (panisara)

Arbusto erguido, de 1-1,5 metros de alto, poco ramificado posee tallos de forma cuadrangulares con un corte transversal tanto pilosos, hojas pecioladas opuestas, con lamina simple, de forma deltoidea, cara inferior densamente pubescente. Influrescencia emerge de la axila de cada una de sus hojas, contienen pocas flores con pétalos de color anaranjado. Envoltura floral constituye (cáliz y corola) zigomorfas, pentámeras. Corola tubular arqueada, el ápice terminado en cinco glóbulos de ápice obtuso. Androceo formado por cinco estambres más largos que la longitud de la corola <sup>(16)</sup>.

## PROPIEDADES MEDICINALES

Satureja pulchella “panisaraa”, actualmente presenta el nombre de *Clinopodium Pulchellum* (kunt) Govaerts, esta es una planta oriunda del norte del Perú. Comúnmente se utiliza para las dolencias retrasos mentales y gastrointestinales. Estudios realizados han mostrado la capacidad antibacteriana y antioxidante, de aceites esenciales como también de extractos acuosos <sup>(16)</sup>.

### **III. Hipótesis**

#### **3.1. Hipótesis Alternativa ( $H_1$ ):**

El extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*(Panisara) presenta efecto sobre la inflamación en miembros inferiores de *Mus mûsculos var. Albinus*.inducida con carragenina.

#### **3.2. Hipótesis Nula ( $H_0$ ):**

El extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*(Panisara) no presenta efecto sobre la inflamación en miembros inferiores de *Mus mûsculos var. Albinus*.inducida con carragenina.

## **IV. Metodología**

### **4.1. Diseño de investigación**

#### **Tipo de investigación**

Formada por 4 grupos de investigación distribuidos en 6 *Mus musculus* (ratones) cada grupo traídos del INS- Lima, dándole 1 semana con el fin de aclimatación, donde se dio de comer alimentos adquirido del INS y agua a demanda.

#### **A. Grupo blanco**

Estuvo formado por 6 *Mus musculus* var. Albinus, entre un peso de  $30\pm 10$ g agrupados aleatoriamente, se procedió a cuantificar el diámetro en la pata derecha de los ratones y luego siguiendo la técnica del edema sub plantar la administración de suero fisiológico (0.1ml V.S) en la aponeurosis plantar y posteriormente se realizó las medidas a las 1, 3 y 5 h con un vernier electrónico.

#### **B. Control Positivo**

Estuvo formado por 6 *Mus musculus* var. Albinus, entre un peso de  $30\pm 10$ g agrupados aleatoriamente, se procedió a cuantificar el diámetro en la pata derecha de los ratones y luego siguiendo la técnica del edema sub plantar la administración de carragenina al 2 % (0.05ml V.S.) en la aponeurosis plantar y posteriormente se realizará las medidas a las 1, 3 y 5 h con un vernier electrónico.

### **C. Grupo Farmacológico:**

Estuvo formada por 6 *Mus musculus* var. *Albinus*, entre un peso de  $30\pm 10$ g agrupados aleatoriamente, se procedió a cuantificar el diámetro en la pata derecha de los ratones y luego se le administró el diclofenaco a una dosis de 50mg/kg, después de media hora se le administró la solución de carragenina al 2 % siguiendo la técnica (0.05 ml V.S) en la aponeurosis plantar, y posteriormente se realizará las medidas a las 1, 3 y 5 h con un vernier electrónico.

### **D. Grupo (extracto de *Clinopodium pulchellum* Panisara)**

Estuvo Conformado por 6 *Mus musculus* var. *Albinus*, entre un peso de  $30\pm 10$ g agrupados aleatoriamente, se procedió a cuantificar el diámetro en la pata derecha de los ratones y siguiendo la técnica del edema sub plantar la administración de carragenina al 2 % (0.05ml), se administró el extracto de *C. pulchellum* (Panisara) en una dosis de 200mg/kg pc. Via IP, posteriormente se realizó las medidas a las 1, 3 y 5 h con un vernier electrónico.

## **4.2. Población y muestra**

### **Población:**

Estará formado por las plantas de *C. pulchellum* (*Panisara*) cultivadas y traídas de otuzco.

### **Muestra:**

Formada por hojas de *C. pulchellum* (panisara) previamente lavadas y bien conservadas recolectadas del distrito de otuzco.

#### 4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Diseño Operacional	Instrumento de la Medición	Dimensiones
<b>Independiente</b> <b>Extracto de <i>clinopodium pulchellum</i> (panisara)</b>	El extracto es preparado por método de maceración usando alcohol para extraer los principios activos presentes en la planta con propiedades antiinflamatorias.	Es efectuado con hojas secas molidas diluidas en cierta cantidad de alcohol. Siendo administrado según kg./peso del animal.	200mg/kg pc.	Cuantitativa
<b>Dependiente:</b> <b>Efecto antiinflamatorio</b>	El efecto antiinflamatorio está formado por sustancias muy variadas desde el punto de vista estructural con la única finalidad de disminuir la inflamación aguda originada en un sitio específico. Llevado desde los órganos del sistema respiratorio..	Los ratones fueron inducidos inflamación con carragenina (0,01 ml, 2 % disuelto en solución salina) que se les inyectó en la aponeurosis plantar de los ratones. El diámetro de la pata se midió a las 1, 3, 5 h después de la inyección.	Técnica del Edema Sub plantar  Diámetro de la inflamación en mm	Cuantitativa

#### **4.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos**

##### **Recolección del material vegetal**

Las hojas se limpiaron con agua del grifo 3 veces y 1 vez con agua destilada luego se llevó se secaron a la estufa a 40°C. Las hojas secas serán molidas en polvo grueso mediante un molino mecánico.

##### **Preparación del extracto**

El polvo grueso (275 g) se tamizó y se llevó a maceración con 550 ml de alcohol de 70° durante siete días en los vasos herméticos con agitación ocasional a temperatura ambiente. Los macerados se filtraron a través de papel de filtro Whatman No. 1 y se concentró el evaporador rotatorio a 35°C y a alta presión. El extracto concentrado se almacena en recipientes de vidrio de color Ambar<sup>(17)</sup>.

##### **Técnica de inflamación inducida con carragenina (edema Subplantar en ratones)**

Los ratones fueron inducidos a inflamación con carragenina 2% (disuelto en solución salina) se inyecta 0,1 ml en la parte miembro inferior derecho (aponeurosis subplantar). El diámetro de la pata inflamada fue medida a las 1, 3, 5 horas después de la inyección de carragenina al 2% <sup>(18)</sup>.

#### **4.5. Plan de Análisis**

Este trabajo de investigación fue analizado a la aplicación de la prueba ANOVA



#### 4.6. Matriz de consistencia

Título:	Problema:	Objetivos	Hipótesis	Diseño de Investigación	Variables:	Definición operacional	Dimensiones	Plan de Análisis
efecto del extracto etanólico de hojas de clinopodium pulchellum (panisara) sobre la inflamación en miembros inferiores de <i>Mus musculus var. Albinus</i> inducida con carragenina	¿Tendrá efecto antiinflamatorio el extracto de clinopodium pulchellum (panisara) sobre la inflamación en miembros inferiores de <i>Mus musculus var. Albinus</i> inducida con carragenina?	<p><b>Objetivos general</b></p> <p>Determinar el efecto del extracto etanólico de hojas de Clinopodium pulchellum (PANISARA) sobre la inflamación en miembro inferior de <i>Mus musculus var. Albinus</i> inducida con carragenina.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cuantificar la variación del diámetro externo producto de la inflamación en el miembro inferior inducida con carragenina para la determinación del efecto antiinflamatorio de Clinopodium pulchellum (PANISARA) en <i>Mus musculus var. Albinus</i>.</li> </ul>	<p><b>Hipótesis Nula:</b></p> <p>El extracto etanólico de hojas de Clinopodium pulchellum (Panisara) no presenta efecto sobre la inflamación en el miembro inferior de <i>Mus musculus var. Albinus</i>. Inducida con carragenina.</p> <p><b>Hipótesis Alternativa:</b></p> <p>El extracto etanólico de hojas de Clinopodium pulchellum (Panisara) presenta efecto sobre la inflamación en el miembro inferior de <i>Mus musculus var. Albinus</i> inducida con carragenina.</p>	El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte longitudinal	<p><b>Independiente</b></p> <p>Extracto de Clinopodium pulchellum (PANISARA)</p> <p><b>Dependiente</b></p> <p>Efecto Antiinflamatorio.</p>	<p>El extracto se obtendrá mediante maceración y será concentrado, luego se administrará en dos dosis.</p> <p>El efecto antiinflamatorio está formado por sustancias muy variadas desde el punto de vista estructural con la única finalidad de disminuir la inflamación aguda originada en un sitio específico.</p>	<p>Cuantitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Cuantitativa</p> <p>De razón</p>	Tabulado en Ms Excel y procesado con el Software SPSS con las pruebas ANOVA y Test de Tukey

#### **4.7. Principios Éticos**

Toda investigación debe tener un balance riesgo-beneficio positivo y justificado, para asegurar el cuidado de la vida y el bienestar de las personas que participan en la investigación. En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios <sup>(22)</sup>.

Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y tomar medidas para evitar daños <sup>(22)</sup>.

El investigador debe anteponer la justicia y el bien común antes que el interés personal. Así como, ejercer un juicio razonable y asegurarse que las limitaciones de su conocimiento o capacidades, o sesgos, no den lugar a prácticas injustas. El investigador está obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación, y pueden acceder a los resultados del proyecto de investigación <sup>(22)</sup>.

## V. Resultados

### 5.1. Resultados

Tabla 01. Cuantificación de la variación del diámetro externo producto de la inflamación en el miembro inferior inducida con carragenina para la determinación del efecto antiinflamatorio de *Clinopodium pulchellum* (PANISARA) en *Mus musculus var. Albinus*.

Grupo	Promedio del diámetro inflamado / Tiempo tras la inducción				Significancia(p)
	Tiempo de evaluación				
	Basal	1 h	3h	5h	
<b>Blanco</b> (solución salina)	2.01± 0.02 mm	2.06± 0.02 mm	2.12± 0.03 mm	2.03± 0.02 mm	
<b>Control</b> (carragenina 2%)	2.09± 0.01 mm	2.20± 0.04 mm	2.35± 0.04 mm	2.27± 0.04 mm	<0.05*
<i>Estándar farmacológico</i> (diclofenaco)	2.07± 0.02 mm	2.12± 0.06 mm	2.15± 0.04 mm	2.08± 0.03 mm	
<i>Clinopodium pulchellum</i> (200mg/kg.pc)	2.03± 0.03 mm	2.19± 0.08mm	2.25 ± 0.04 mm	2.20 ± 0.01 mm	

\*Prueba ANOVA (P<0.05)

## 5.2. Análisis de resultados

En la tabla 01 se observa los valores promedio del diámetro producido tras la inflamación medida en milímetros para cada grupo de estudio, los valores más elevados de inflamación se producen 3 horas después de la inducción del agente inflamatorio, el grupo control que fue de  $2.35 \pm 0.04$  mm, los grupos experimentales en el mismo tiempo; presentaron valores de  $2.15 \pm 0.04$  mm a dosis de 200 mg/kg y  $2.25 \pm 0.04$  mm respectivamente.

En el grupo blanco al no tener un inductor de inflamación, el diámetro de la pata medida es la respuesta natural inflamatoria a una agresión en los tejidos producto de la inyección de suero fisiológico. Sin embargo, en el caso del grupo control (inducido con carragenina) se observa un aumento progresivo de la inflamación donde según Morris, es un proceso inflamatorio en animales de experimentación consta de tres fases: una primera liberación de histamina y serotonina (primera 1,5 h), una segunda fase mediada por cininas (1 h después de la fase 1) y, por último, una tercera fase mediada por prostaglandinas. La inflamación en el grupo inducida se basa en el mecanismo pro inflamatorio de la carragenina que explica que la inyección subplantar de carragenina provoca una respuesta inflamatoria que se caracteriza por un aumento dependiente del tiempo en el edema de la pata, además la infiltración de neutrófilos y el aumento de los niveles de nitrito / nitrato ( $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ ) y prostaglandina E 2 (PGE 2)<sup>(20)</sup>.

La inflamación inducida por carragenina es altamente reproducible, además de presentarse los signos cardinales de la inflamación (rubor, tumor, calor, dolor,) se desarrollan

inmediatamente después de la inyección subcutánea, como resultado de la acción de agentes proinflamatorios<sup>(20)</sup>.

El efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*(PANISARA) a la dosis de 200mg/kg en *Mus musculus var. Albinus*. frente al diclofenaco según Suarez, es un inhibidor de la ciclooxigenasa, antiinflamatorio utilizado con mucha frecuencia, estos fármacos tienen tres acciones terapéuticas principales que se originan en la supresión de la síntesis de prostanoïdes en las células inflamatorias mediante la inhibición de la isoforma ciclooxigenasa produciendo así su acción antiinflamatoria: la disminución de la prostaglandina E2 y la prostaciclina reduce la vasodilatación e indirectamente, el edema<sup>(21)</sup>, pero también el extracto logra un descenso del diámetro de la pata inflamada al tiempo de 3h con una medida de diámetro  $2.25 \pm 0.04$ mm en comparación con el grupo control, esto se debería a los metabolitos presentes en el extracto etanólico de *Clinopodium pulchellum* donde según Reynoso et al, *Clinopodium pulchellum* revela la presencia de compuestos reductores, polisacáridos, taninos, triterpenos, esteroides y cumarinas como los principales fitoconstituyentes y flavonoides<sup>(21)</sup>.

El extracto de *Clinopodium* suprime la activación de NF- $\kappa$ B al prevenir la fosforilación de I $\kappa$ -B e inhibe la fosforilación de proteína. Regula a la baja la expresión de iNOS que se manifiesta como una disminución drástica de la producción de NO, inhibe la activación de MMP-9, pero no afecta los niveles de proteína COX-2 y reduce solo ligeramente la PGE2 liberada. La secreción de IL-1 $\beta$  e IL-10 se reduce considerablemente, mientras que

la supresión de la producción de TNF- $\alpha$  y GM-CSF es menos dramática. El extracto tiene fuertes propiedades de eliminación de radicales libres y ejerce un efecto inhibitor sobre la actividad de la xantina oxidasa, lo que reduce los niveles de ROS intracelular<sup>(21)</sup>.

## **VI. Conclusiones**

- Se determinó el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*(PANISARA)en *Mus musculus var albinus*. Tiene efecto antiinflamatorio evidenciado por la prueba estadística Anova con un  $P < 0.05$  al evaluar todos los grupos de experimentación.
- Se cuantificó la variación del diámetro externo producto de la inflamación en el miembro inferior inducida con carragenina fue  $2.35 \pm 0.04$  mm a las 3 horas en comparación con *Clinopodium pulchellum* (*Panisara*) que fue de  $2.25 \pm 0.04$  mm al mismo tiempo, produciendo un efecto antiinflamatorio.

## **Aspectos complementarios**

- Se recomienda en futuras investigaciones la comparación de diferentes extractos utilizando solventes diferentes, en la búsqueda de una mayor cantidad y estabilidad de los metabolitos.
- Se sugiere la identificación y cuantificación de los metabolitos que serían responsables del efecto antiinflamatorio.
- Profundizar el estudio de las especies de *Clinopodium pulchellum* recolectadas en diferentes lugares del Perú y determinar el que presente mayor efecto antiinflamatorio.

## Referencias Bibliográficas

1. Lagos C. Plantas Medicinales Utilizadas En El Tratamiento De Enfermedades Ginecológicas En Leticia Y Puerto Nariño (Amazonas, Colombia). Etnobiología [Internet]. 2015 [citado 5 octubre 2018]; 13(1):53–72. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5294496>
2. Paredes E. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de hojas de *olea europaea* linneo (olivo) en edema plantar inducido en animales de experimentación. Univ Católica St María - UCSM [Internet]. 2016 [citado 6 octubre 2018]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/5068>
3. Global Policy and International Public Affairs. Chronic Inflammation and Inflammatory Disease. ValueOfMedicines. 2017;1–5.
4. Chou T. Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. Br J Pharmacol. 2003;139(6):1146–52.
5. Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, Inflammation, and Defense of Homeostasis. Mol Cell. 2014;54(2):281–8.



6. De Sousa O, Vieira G, De Pinho J , Yamamoto C, Alves M, De Sousa O, et al. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. Int J Mol Sci [Internet]. 2010 [citado 6 octubre 2018];11(5):2067–78. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2885094/>
7. De Sales I, Formiga RDO, Machado FDF, Nascimento RF, Pessoa MMB, Barros MEFX, et al. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in animal models. J Ethnopharmacol. 2018;222:190–200.
8. Nantel F, Denis D, Gordon R, Northey A, Cirino M, Metters K, et al. Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. Br J Pharmacol [Internet]. 1999 [citado 6 octubre 2018];128(4):853–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10556918/>
9. Lock O, Perez E, Villar M. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. Nat Prod Commun [Internet]. 2016 [citado 6 octubre 2018];11(3):315–37. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/301583788\\_Bioactive\\_Compounds\\_from\\_Plants\\_Used\\_in\\_Peruvian\\_Traditional\\_Medicine](https://www.researchgate.net/publication/301583788_Bioactive_Compounds_from_Plants_Used_in_Peruvian_Traditional_Medicine)

10. Jeeva S, Johnson M, Aparna J, Irudayaraj V. Preliminary phytochemical and anti-bacterial studies on flowers of selected medicinal plants. *Int J Med Aromat Plants*. 2011;1(2):107–14.
11. Toche A, Curay V, Diaz R, Fernandez G, Bonilla P. Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara". *Rev Peru Med Integr [Internet]*. 2017 [citado 6 octubre 2018];2(3):803. Disponible en: <http://www.rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/view/66>
12. Tapia E. Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panizara." Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2018 [citado 6 octubre 2018]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7557>
13. Yance M, Yance M. Les expériences des étudiants Erasmus en ... [Internet]. Vol. 0, *Theorēma* (Lima, Segunda época, En línea). Jenior und Pressler; 2016 [citado 6 octubre 2018]:57-63. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/Theo/article/view/11938>
14. Lock O, Perez E, Villar M. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *Nat Prod Commun [Internet]*. 2016 [citado 04 de setiembre 2018];11(3):315–37. Disponible en: <http://www.Ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27169179>

15. Porto C, Soares L, Souza T, Petrovick P, Lyra I, Araújo R, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Phyllanthus niruri* spray-dried standardized extract. *Brazilian J Pharmacogn* [Internet]. 2013 [citado 04 de setiembre 2018];23(1):138–44. Disponible en: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2013000100019&script=sci\\_arttext&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2013000100019&script=sci_arttext&tlng=en)
16. Paredes D, Polar S. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de hojas de *olea europaea linneo* (olivo) en edema plantar inducido en animales de experimentación. [Internet]. [Tesis académica]. Arequipa: Universidad Católica Santa María; 2016 [citado 04 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/5068>
17. Katzung B, Masters S, Trevor A. *Farmacología básica y clínica* [Internet]. 11ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2010 [citado 23 de agosto 2018]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2734>
18. Salvemini D, Wang Z, Wyatt P, Bourdon D, Marino M, Manning P, et al. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Br J Pharmacol* [Internet]. 1996 [citado 04 de setiembre 2018];118(4):829–38. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1909531/pdf/brjpharm00083-0008.pdf>
19. Domínguez J. *Reglamento del comité institucional de ética en investigación (CIEI)*. [Internet]. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2018 [citado 04 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images>

/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf

20. Burk, David R., Patti Senechal-Willis, Linda C. Lopez, Brenda G. Hogue, and Sasha M. Daskalova. 2009. "Suppression of Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in RAW 264.7 Murine Macrophages by Aqueous Extract of *Clinopodium Vulgare* L. (Lamiaceae)." *Journal of Ethnopharmacology* 126 (3): 397–405.

21. Reynoso M, Coca M, Brodkiewicz I, Jaime G, Perotti M, Schuff C, et al. Efectos antiinflamatorios y seguridad de los extractos y aceites esenciales de *Clinopodium gilliesii* (muña muña). *Revista Internacional de Ciencias Farmacéuticas e Investigación de Drogas*. 2018;10(4).

22. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La Investigación. Versión 004. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0037-2021-CU-ULADECH Católica, de fecha 13 de enero del 2021 [Citado el 18 de Septiembre del 2021]. [https://web2020.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf?fbclid=IwAR0fYpVHYxkXgGT7QZzZd\\_VrQQWHfm7byRTVhZcp\\_FJ0-kv9r0yn\\_fNo6wU](https://web2020.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf?fbclid=IwAR0fYpVHYxkXgGT7QZzZd_VrQQWHfm7byRTVhZcp_FJ0-kv9r0yn_fNo6wU)

## Anexos

### Anexo 1: Lugar donde se recolecto (*Clinopodium pulchellum* (PANISARA))



- Otuzco

### Anexo 2: (*Clinopodium pulchellum* (PANISARA))



**Anexo 2:** Obtención del extracto de (*Clinopodium pulchellum* (PANISARA))



**Anexo 3:** Preparación de la carragenina al



