



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
CÁTEDRA COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN  
“DR. José Rafael Luna”  
UNIDAD CURRICULAR: TRABAJO DE GRADO II**



**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VIVO* DE LA INFUSIÓN DE  
*Moringa* sp POR EL MÉTODO DE EDEMA AURICULAR INDUCIDO POR  
XILOL EN RATONES BIOU-NMRI**

Trabajo presentado como requisito para optar al título de Licenciada en  
Bioanálisis

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Autores:**

**María Inmaculada Jerez Carrillo**

**C. I.: 24.196.112**

**Claret del Valle Uzcátegui Núñez**

**C. I.: 25.643.077**

**Tutor:**

**Dra. Nurby Nahiely Ríos Tesch**

**Co-tutor:**

**Profa. Flor Mora**

**Asesor Metodológico:**

**Dr. José Gregorio Hernández**

**Mérida, Mayo de 2021**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                                                            | <b>Pág</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>DEDICATORIA</b>                                                                         | Iv         |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>                                                                     | V          |
| <b>INDICE DE FIGURAS</b>                                                                   | vi         |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                                                                    | vii        |
| <b>RESUMEN</b>                                                                             | viii       |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                                                                        | 1          |
| <b>CAPITULO I. EL PROBLEMA</b>                                                             | 3          |
| <b>Planteamiento del problema</b>                                                          | 3          |
| <b>Justificación de la investigación</b>                                                   | 5          |
| <b>Objetivos de la investigación</b>                                                       | 6          |
| <i>Objetivo General</i>                                                                    | 6          |
| <i>Objetivos Específicos</i>                                                               | 7          |
| <b>Alcances y limitaciones de la investigación</b>                                         | 7          |
| <b>CAPITULO II. MARCO TEORICO</b>                                                          | 8          |
| <b>Trabajos Previos</b>                                                                    | 8          |
| <b>Antecedentes Históricos</b>                                                             | 12         |
| <b>Bases teóricas</b>                                                                      | 12         |
| Aproximación teórica sobre los metabolitos secundarios de las plantas                      | 12         |
| Aproximación teórica sobre los fitoquímicos                                                | 12         |
| Aproximación teórica sobre la actividad antiinflamatoria del extracto de <i>Moringa</i> sp | 13         |
| Composición química de la <i>Moringa</i> sp                                                | 13         |
| Descripción de la <i>Moringa</i> sp                                                        | 14         |
| Propiedades de la <i>Moringa</i> sp                                                        | 15         |
| Inflamación                                                                                | 15         |
| Determinación de la actividad antiinflamatoria de la <i>Moringa</i> sp                     | 19         |
| <b>Definición Operacional de Términos</b>                                                  | 20         |
| <b>Operacionalización de Variables</b>                                                     | 21         |
| <b>Hipótesis</b>                                                                           | 21         |
| <b>CAPITULO III. MARCO METODOLOGICO</b>                                                    | 24         |
| <b>Tipo de Investigación</b>                                                               | 24         |
| <b>Diseño de Investigación</b>                                                             | 24         |
| <b>Población y Muestra</b>                                                                 | 25         |
| <i>Unidad de investigación</i>                                                             | 25         |
| <b>Sistema de variables</b>                                                                | 26         |
| <b>Metodología de Investigación</b>                                                        | 26         |
| <i>Recolección del material vegetal</i>                                                    | 26         |
| <i>Preparación de la infusión</i>                                                          | 26         |
| <i>Método de edema auricular inducido por xilol</i>                                        | 27         |
| <i>Protocolo de experimentación</i>                                                        | 28         |
| <b>Diseño de Análisis</b>                                                                  | 29         |

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| <b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> | 30 |
| <b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES</b>            | 34 |
| <b>RECOMENDACIONES</b>                     | 35 |
| <b>Bibliohemerografía</b>                  | 36 |
| <b>ANEXOS</b>                              | 42 |

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a todas las personas que han sido partícipes en su desarrollo bien sea en cuanto a apoyo, aportes y ejecución:

- A Dios, nuestro padre creador
- A nuestros padres, hermanos y demás familiares
- A nuestra Facultad de Farmacia y Bioanálisis y todos los que hacen vida en ella
- A la ilustre Universidad de los Andes
- A aquellas personas que desean hacer aportes e investigaciones en el área competente

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos principalmente a Dios, creador y Padre por permitirnos vivir esta etapa de nuestra vida y nuestra carrera y culminarla con éxito.

Agradecemos a nuestros padres, por ser nuestro pilar, guía y máximo apoyo, sin ustedes no lo habríamos logrado, siempre serán nuestro mejor ejemplo.

A nuestros hermanos, abuelos, tíos, primos y demás familiares, por siempre alentarnos, aconsejarnos y ayudarnos a seguir adelante, siempre contarán con nuestro apoyo.

A nuestros compañeros de clases, risas, experiencias y anécdotas, siempre los recordaremos

A nuestra tutora, por sus orientaciones en este camino, hemos aprendido destrezas nuevas gracias a la ejecución de este trabajo

A cada uno de nuestros profesores y profesoras, su esfuerzo diario, entrega, pasión y dedicación fueron transmitidos hacia nosotros en cada clase, son un gran ejemplo a seguir

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, casa que nos acogió durante estos años de lucha y esfuerzo

A la Ilustre Universidad de los Andes, alma máter que con sus puertas abiertas nos recibió y formó para ser profesionales de calidad

A todas aquellas personas que con una palabra, sonrisa, o gesto siempre estuvieron dispuestos a darnos aliento para la consecución de nuestra meta.

¡Infinitas gracias!

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                       | Pág.      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 1. Terpenoide</b>                                                                                                           | <b>13</b> |
| <b>Figura 2. Flavonoide</b>                                                                                                           | <b>14</b> |
| <b>Figura 3. Moringina</b>                                                                                                            | <b>14</b> |
| <b>Figura 4. Carotenoide</b>                                                                                                          | <b>16</b> |
| <b>Figura 5. Efecto antiinflamatorio de la infusión de <i>Moringa</i> sp a 50 y 100 mg/kg frente a controles positivos y negativo</b> | <b>31</b> |

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                 | Pág. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Tabla 1. Operacionalización de la variable dependiente actividad antiinflamatoria de la infusión de <i>Moringa</i> sp</b>                                    | 21   |
| <b>Tabla 2. Operacionalización de la variable independiente infusión de <i>Moringa</i> sp</b>                                                                   | 22   |
| <b>Tabla 3. Evaluación <i>in vivo</i> de la Actividad Antiinflamatoria por el método de edema auricular inducido por xilol. Grupo control</b>                   | 29   |
| <b>Tabla 4. Evaluación <i>in vivo</i> de la Actividad Antiinflamatoria por el método de edema auricular inducido por xilol. Grupo infusión a 50 y 100 mg/kg</b> | 30   |

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS  
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: *Moringa* sp



**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DE LA INFUSIÓN DE  
*Moringa* sp POR EL MÉTODO DE EDEMA AURICULAR INDUCIDO POR  
XILOL EN RATONES BIOU-NMRI  
Trabajo de Grado**

**Autores:**

María Inmaculada Jerez Carrillo  
Claret del Valle Uzcátegui Nuñez

**Tutor:**

Dra. Nurby Nahiely Ríos Tesch

**Asesor Metodológico:**

Dr. José Gregorio Hernández

**RESUMEN**

La *Moringa* sp es un árbol proveniente de la familia Moringaceae, perteneciente al género *Moringa* del cual hay 14 especies entre las que *M. oleífera* ha ganado popularidad por sus múltiples propiedades. Las hojas frescas de esta planta, poseen grandes cantidades de vitaminas tanto liposolubles como hidrosolubles, además de calcio, hierro, potasio, cobre, magnesio, zinc, todos los aminoácidos esenciales, antioxidantes, glucosinatos e isotiocianatos. El objetivo de esta investigación fue confirmar la actividad antiinflamatoria de la *Moringa* sp en edema auricular inducido por xilol en ratones machos. Las hojas de *Moringa* fueron recolectadas en el Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes. Se preparó una infusión a partir de 5 g de material vegetal seco y molido a polvo grueso y 100 mL de agua hirviendo, se filtró y administró por vía intramuscular a los ratones a las dosis de 50 y 100 mg/Kg, junto al control positivo y negativo. Se suministró 20 µL de xilol mediante aplicación con ayuda de una micropipeta en la oreja derecha del ratón. Se pesaron ambas orejas luego de 3 horas. El edema resultante en el control negativo (solución fisiológica) fue de 4,31 mg, representando el 100 % de inflamación, en cuanto a la dexametasona 16,24 % y 35,96 % para el diclofenac sódico. La infusión de *Moringa* sp en estudio mostró un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 58,24 % a la dosis de 50mg/kg y 60,56 % a 100 mg/kg, mostrando una actividad antiinflamatoria moderada. Sin embargo, se recomienda realizar estudios a dosis distintas para obtener resultados de mayor alcance.

**Palabras clave:** actividad antiinflamatoria, *Moringa*, edema auricular, ratones, xilol.

## INTRODUCCIÓN

La *Moringa* es una planta perteneciente a la familia Moringaceae, ampliamente cultivada en el mundo por considerarse un vegetal multiusos, tanto como alimento funcional, saneamiento de agua y fines medicinales en evaluaciones empíricas. Dichos beneficios han sido asociados a sus metabolitos secundarios, predominantemente compuestos fenólicos, vitaminas liposolubles e hidrosolubles y proteínas, distribuidos en diversas partes de la planta y que le atribuyen efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antidiabéticos, antioxidantes y antimicrobianos (Torres *et al.*, 2013).

La actividad antiinflamatoria de vegetales ha sido estudiada tanto en extractos como en metabolitos secundarios aislados. El efecto antiinflamatorio de estas sustancias es de gran utilidad debido a las ventajas que ofrecen sus múltiples beneficios y baja incidencia de efectos colaterales. Se ha demostrado que los extractos de hojas de *M. oleifera* modulan la inmunidad humoral y celular en ratas y ratones con inflamación de pata inducida químicamente. (Gómez, González y Medina, 2011; Mbikay, 2012). De allí la inquietud por conocer la relación entre la actividad antiinflamatoria y la infusión de *Moringa* sp en la unidad de investigación respectiva.

En este estudio, se tomaron 6 ratones por cada grupo: grupo control negativo (solución fisiológica), grupo control positivo: diclofenac (10 mg/kg), grupo control positivo: dexametasona (1 mg/kg) y grupos de infusión de *Moringa* sp a 50 y 100 mg/kg para evaluar la actividad antiinflamatoria de la planta. Los resultados obtenidos se expresaron a través de un análisis estadístico.

Esta investigación se desarrolló siguiendo las Normas APA, la cual se distribuyó en cinco capítulos: Capítulo I: El Problema, que incluye el planteamiento del problema, justificación de la investigación, objetivo general y específicos y los alcances y limitaciones de la investigación. Capítulo II, titulado: Marco Teórico, constituido por los Trabajos previos,

Antecedentes históricos, Bases teóricas, Definición Operacional de términos, Operacionalización de variables y la Hipótesis y el Capítulo III: Marco Metodológico, presenta el Tipo de investigación, Diseño de investigación, Población y muestra, el Sistema de variables, la metodología de investigación, diseño de análisis y los Aspectos administrativos de la investigación. Seguidamente, se presenta el Capítulo IV: Resultados y Discusión generados de esta investigación. Por último, se encuentra el Capítulo V: en el que se exponen las conclusiones y recomendaciones originadas de la investigación.

En tal sentido, el objetivo de esta investigación fue confirmar la relación entre la actividad antiinflamatoria *in vivo* y la infusión de *Moringa* sp por el método de edema auricular inducido por xilol en ratones BIO-NMRI en el laboratorio de Química de Medicamentos orgánicos “Dr. Ramón Masini Osuna” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes desde septiembre 2018 hasta octubre 2018.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## CAPÍTULO I

### EL PROBLEMA

#### Planteamiento del Problema

La actividad antiinflamatoria de fuentes naturales ha sido objeto de estudio tanto en extractos como en sus metabolitos secundarios aislados. El efecto antiinflamatorio de sustancias de origen vegetal tiene gran utilidad debido a las ventajas que ofrecen sus múltiples beneficios y baja incidencia de efectos secundarios (Gómez, González y Medina, 2011).

Los extractos de *Moringa* poseen un grado variable de actividad antiinflamatoria aguda, que podría atribuirse a sus agentes bioactivos como flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, esteroides, glucósidos y alcaloides. Estas propiedades probablemente estén mediadas por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas y mecanismos inhibidores centrales (Tamrat, Nedi, Assefa, Teklehaymanot y Shibeshi, 2017).

Las plantas al llevar a cabo su metabolismo básico, producen una serie de compuestos esenciales, como proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y lípidos (Castillo y Martínez, 2007). Por otro lado, en la planta hay una gran cantidad de compuestos orgánicos que no están implicados directamente en su crecimiento y desarrollo; estas sustancias se conocen como metabolitos secundarios, productos secundarios o productos naturales, (Taiz y Zeiger, 2006) y son fuente de compuestos biológicamente activos que pueden utilizarse en medicina herbolaria tradicional o bien en la medicina moderna para el consumo animal y del ser humano (Anaya, Espinosa y Cruz, 2001).

Los fitoquímicos son compuestos orgánicos de origen vegetal, cuyas propiedades fisiológicas van más allá de las nutricionales propiamente dichas. Dentro de estas sustancias existen diversas familias químicas que

poseen estructuras y propiedades muy variadas, como son: polifenoles, entre los que se incluyen los pigmentos antociánicos, taninos, flavonoles, isoflavonas, lignanos, estilbenoides y derivados de ácidos aromáticos, los glucosinolatos, compuestos terpenoides, como los carotenoides y el limoneno, entre otros. Estas sustancias parecen ser responsables, al menos en parte, del papel beneficioso para la salud asociado al consumo de frutas, hortalizas y alimentos derivados de ellas (Santos, 2001).

La actividad antiinflamatoria de *Moringa* involucra un alto contenido de fenoles, vitaminas, ácidos grasos omega 3, aminoácidos, glutatión, esteroides e isocianatos (Ezeamuzie, Ambadederomo, Shode y Ekwebelem, 1996). En experimentos *in vivo* de extractos acuosos se ha demostrado una notable reducción del edema inducido por carragenina (Ndiaye et al., 2002).

Waterman *et al.* (2014), demostraron la actividad antiinflamatoria a nivel genético de un concentrado de hojas de *Moringa* acuoso, utilizando modelos *in vitro* de células neoplásicas, en los cuales encontraron isotiocianatos estables, respaldando su uso en el tratamiento de afecciones asociadas a la inflamación crónica.

Vasanth *et al.* (2015), evaluaron el efecto antiinflamatorio de la *Moringa* en la línea celular monocítica humana estimulada por lipopolisacáridos, evidenciando una importante inhibición *in vitro* tanto en la producción de citocinas proinflamatorias, como de óxido nítrico y mediadores de la respuesta inmune a la dosis mínima de 31,25 µg/mL.

Giacoppo *et al.* (2017), demostraron los efectos beneficiosos de la moringina, contenida en la *Moringa*, relacionados con la modulación del desencadenamiento de la cascada inflamatoria, probando su actividad antiinflamatoria *in vitro* en modelos de macrófagos RAW 264.7 estimulados con lipopolisacáridos. Los resultados obtenidos *in vivo* mostraron mayor eficacia no solo para modular la vía inflamatoria, sino también el estrés oxidativo y las vías apoptóticas.

Después de describir la situación actual del problema de estudio, los autores formulan el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la relación entre la actividad antiinflamatoria *in vivo* y la infusión de *Moringa* sp en ratones BIOU:NMRI en el laboratorio de Química de Medicamentos orgánicos Dr. Ramón Masini Osuna de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes desde septiembre 2018 hasta octubre 2018?

### **Justificación de la Investigación**

De acuerdo con Hurtado (2015): “el porqué de la investigación constituye la justificación. La justificación alude a las razones que llevaron al investigador a seleccionar el tema en cuestión” (p.89). Además, afirma:

Una investigación puede surgir por la existencia de motivaciones de diversa índole o inquietudes. También puede iniciarse por sugerencia de otras personas involucradas en investigaciones más amplias que requieren de continuidad o complemento. Otra manera de iniciar investigaciones es a través de la detección de potencialidades (...). La justificación permite explicar la importancia del tema seleccionado y de la investigación a realizarse, considerando su relevancia social, científica, personal, institucional, entre otras. (p.90)

En tal sentido, los autores de esta investigación identificaron como potencialidades: la utilidad de las plantas debido a sus múltiples beneficios y baja incidencia de efectos secundarios gracias a la producción de una gran cantidad de compuestos no implicados directamente en su crecimiento y desarrollo, conocidos como metabolitos secundarios (Gómez, González y Medina, 2011; Taiz y Zeiger, 2006). La función biológica de dichos compuestos puede ser utilizada en medicina herbolaria tradicional o en medicina moderna (Anaya, Espinosa y Cruz, 2001). La presencia de estos metabolitos en la *Moringa* han demostrado una notable reducción del edema, por lo cual el uso de extracto de *Moringa* en concentraciones adecuadas tiene una importante inhibición en la producción de citoquinas proinflamatorias, óxido nítrico y mediadores de la respuesta inmune, resultando favorable en el tratamiento de

afecciones asociadas a la inflamación crónica (Ndiaye *et al.*, 2002; Vasanth *et al.*, 2015; Waterman *et al.*, 2014).

Los investigadores de este trabajo identificaron razones que les interesaron, las cuales incluyen: el papel beneficioso para la salud que poseen los fitoquímicos y específicamente, el grado variable de actividad antiinflamatoria aguda que posee la *Moringa* (Santos, 2001; Tamrat, Nedi, Assefa, Teklehaymanot y Shibeshi, 2017).

Al considerar los porqués anteriores, los autores de esta investigación también encontraron razones con categoría de inquietud, en cuanto a la propiedad antiinflamatoria de la *Moringa*, probablemente asociada a la inhibición en la síntesis de prostaglandinas y mecanismos inhibidores centrales, relacionados con la modulación del desencadenamiento de la cascada inflamatoria (*ibid*; Giacoppo *et al.*, 2017).

Los investigadores decidieron focalizar su evento de estudio Actividad antiinflamatoria de la *Moringa* desde el punto de vista analítico por diversas razones. Primera, los beneficios que ofrecen los metabolitos secundarios de las plantas con baja incidencia de efectos secundarios. Segunda, la propiedad antiinflamatoria de la *Moringa* asociada a la inhibición de la síntesis de precursores inflamatorios y sus mecanismos. Tercera, el alto contenido de compuestos sólidos relativamente estables en la *Moringa* que le atribuyen dichas propiedades.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Confirmar la relación entre la actividad antiinflamatoria *in vivo* y la infusión de *Moringa* sp por el método de edema auricular inducido por xilol en ratones BIOU:NMRI en el laboratorio de Química de Medicamentos orgánicos Dr. Ramón Masini Osuna de la Facultad de Farmacia y

Bioanálisis de la Universidad de los Andes desde septiembre 2018 hasta octubre 2018.

### **Objetivos específicos**

- Reconocer la propiedad antiinflamatoria de la infusión de *Moringa* sp
- Contrastar la actividad antiinflamatoria de la infusión de *Moringa* sp junto a los fármacos diclofenac sódico (10 mg/kg) y dexametasona (1 mg/kg) usados como control positivo
- Valorar la actividad antiinflamatoria de la infusión de *Moringa* sp a las dosis de 100 y 50 mg/kg en los ratones BIOU:NMRI con edema auricular inducido por xilol

### **Alcances y Limitaciones**

Hernández-Sampieri (2010), refieren que una investigación tiene una profundidad determinada en cuanto al conocimiento que se desea adquirir. Es por ello que esta investigación tendrá como logro confirmar el evento de estudio, además de pretender conocer la relación causal que tiene la *Moringa* sp con el objeto de estudio.

Las limitaciones de este trabajo estarán dadas por la disponibilidad de la unidad de estudio.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### Trabajos Previos

Minaiyan *et al.* (2014), publicaron en la revista Avicenna Journal Phytomedicine, un trabajo titulado: Efecto antiinflamatorio de *Moringa oleifera* Lam. sobre la colitis aguda inducida por ácido acético en ratas. El objetivo fue, investigar el efecto anticolitis del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* y su fracción de cloroformo en la colitis inducida por ácido acético en ratas. Para ello, se administraron oralmente tres dosis crecientes (50, 100 y 200 mg/kg) a grupos separados de ratas Wistar macho, 2 horas antes de la inducción de la úlcera (usando ácido acético al 4 %) y continuaron durante 5 días. Se usaron prednisolona (4 mg/kg) y solución salina normal (1 ml/kg) en grupos de referencia y control, respectivamente. Todas las ratas fueron sacrificadas 24 horas después de la última dosis (en el día 6) y las lesiones tisulares fueron evaluadas macroscópicamente y patológicamente. Los extractos mencionados anteriormente fueron efectivos para reducir el peso del colon distal como marcador de inflamación y edema tisular. Tres dosis de extracto hidroalcohólico de las semillas de *Moringa oleifera* y dos dosis mayores de cloroformo (100 y 200 mg/kg) fueron efectivas para reducir la severidad, el área y el índice de la úlcera, así como la severidad y extensión de la inflamación de la mucosa, daño a la cripta, compromiso de invasión, índice de colitis total y actividad de la mieloperoxidasa en comparación con los controles. La fracción de cloroformo (50 mg/kg) no fue significativamente eficaz en la reducción de los parámetros evaluados de colitis en comparación con los controles. El extracto hidroalcohólico y

la fracción de cloroformo fueron efectivos para tratar la colitis experimental y esto podría atribuirse a sus principales componentes, biofenoles y flavonoides similares. Como la eficacia era evidente incluso en dosis bajas de extracto hidroalcohólico, la presencia de constituyentes activos con alta potencia en las semillas es determinante. Esta investigación guarda relación con nuestro trabajo, ya que los autores investigaron el efecto antiinflamatorio de la *Moringa oleifera* en ratas.

Tamrat *et al.* (2017): publicaron en la revista Biomed Central (BMC) Complementary and Alternative Medicine, un trabajo titulado: “Actividades Antiinflamatorias y analgésicas de fracciones disolventes de las hojas de *Moringa stenopetala* Back. (Moringaceae) en modelo de ratones”. El objetivo fue evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria de las fracciones disolventes de esta planta, utilizando sucesivas extracciones en soxhlet como método de extracción, empleando disolventes de polaridad creciente, cloroformo, metanol y agua en modelos de ratones albinos suizos en latencia radiante de flick de cola, retorcimiento inducido por ácido acético y edema de pata inducido por carragenina. Los grupos de ensayo recibieron diferentes dosis (100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg) de las tres fracciones. Los grupos de control positivo, recibieron morfina (20 mg/kg) o aspirina (100 mg/kg o 150 mg/kg) y los grupos de control negativo recibieron los 10 ml/kg de vehículos (agua destilada o Tween 80 al 2 %). En todos los modelos, la fracción de cloroformo tenía actividad antiinflamatoria sólo a una dosis de 400 mg/kg. El metanol y la fracción acuosa, en todas las dosis han mostrado actividades analgésicas centrales y periféricas significativas, con un resultado comparable a los estándares. Las fracciones acuosa y metanólica redujeron significativamente la inflamación inducida por carragenina, dependiente de la dosis, donde se observó la mayor reducción de inflamación en la fracción acuosa a 400 mg/kg. De esta manera se evidenció el uso de la planta en dolor e inflamación, pudiendo ser fuente para el desarrollo de nuevos analgésicos y antiinflamatorios. Esta investigación guarda relación

con nuestro trabajo ya que los autores evaluaron la actividad antiinflamatoria en fracción acuosa de la *Moringa stenopetala* en ratones.

Jaja-Chimedza *et al.* (2017), publicaron en la revista Public Library of Science (PLOS), un trabajo titulado: Caracterización bioquímica y propiedades antiinflamatorias de un extracto de semilla de *Moringa* enriquecida con isotiocianato (*Moringa oleifera* Lam). El objetivo de este estudio fue desarrollar, validar y caracterizar bioquímicamente un extracto de semilla de *Moringa* enriquecido con isotiocianato, y comparar los efectos antiinflamatorios del *Moringa* isotiocianato-1 (MIC-1) que contiene el extracto de semilla enriquecido, con extracto de cúrcuma, y un material enriquecido aún más en su fitoquímica primaria, curcumina. Se preparó el extracto de semilla enriquecido incubando semillas de *Moringa* molidas con agua para permitir la formación enzimática catalizada por mirrosinasa de *Moringa* enriquecida con isotiocianato-1 bioactivo, siendo el isotiocianato predominante en las semillas de *Moringa*. La optimización del proceso de extracción produjo un extracto de 38,9 % con isotiocianato. El análisis fitoquímico del extracto de semilla enriquecido, reveló la presencia de isotiocianatos acetilados, glucósidos fenólicos exclusivos de la *Moringa*, flavonoides, grasas y ácidos grasos, proteínas e hidratos de carbono. El extracto de semilla enriquecido mostró una reducción en el edema de la pata de rata inducido por carragenina (33 % a 500 mg/kg MIC-1) comparable a la aspirina (27 % a 300 mg/kg), mientras que el enriquecido con curcumina, no tuvo ningún efecto significativo. *In vitro*, el extracto con isotiocianato a 1  $\mu$ M redujo significativamente la producción de óxido nítrico y a 5  $\mu$ M, la expresión génica de óxido nítrico sintetasa inducible por la óxido nítrico sintetasa e interleucinas 1 $\beta$  y 6 (IL-1 $\beta$  e IL-6), mientras que la de curcumina no mostró actividad significativa en todas las concentraciones analizadas. El extracto con isotiocianato (10  $\mu$ M) también fue más efectivo en la regulación del incremento del factor nuclear derivado de eritroides 2 (Nrf2), genes diana, NADPH: quinona oxidoreductasa 1, glutatión S-transferasa pi 1 (GSTP1 ) y hemoxigenasa 1 (HO1) que el de curcumina. Por lo tanto, el extracto enriquecido con

curcuminoide, el enriquecido con curcumina y el de semilla y su principal isotiocianato (MIC-1) presentaron fuertes propiedades antiinflamatorias y antioxidantes *in vivo* e *in vitro*, lo que los convierte en promesas botánicas para la mitigación de trastornos crónicos mediados por inflamación. La presente investigación guarda relación con nuestro trabajo, ya que sus autores validaron la propiedad antiinflamatoria *in vivo* de la *M. oleifera* en edema inducido en ratas.

### **Antecedentes Históricos**

A pesar de su utilidad ancestral, su aplicación ha sido más bien empírica y la mayor parte de la información existente proviene de la tradición oral o de publicaciones de carácter general. Solo a finales del siglo XX este árbol empezó a recibir una atención merecida por parte de la comunidad científica. Durante las últimas dos décadas se han publicado numerosos reportes sobre la evaluación científica de los procesos de utilización de la planta, así como la identificación de principios activos y mecanismos de acción. Estos avances han permitido explicar muchos de los efectos beneficiosos previamente conocidos, optimizar su empleo y proponer nuevas aplicaciones. (Martin, Ruberte, y Meitzner, 1998).

En diversos estudios, tal como el publicado en 1996, se demostró las propiedades antiinflamatorias del extracto de *Moringa* en el tratamiento de inflamación aguda y crónica. El extracto de *Moringa* fue ingerido por ratas de laboratorio como tratamiento para el edema y la inflamación inducida por carragenina; mientras que los resultados para la inflamación aguda fueron notablemente mejores que los obtenidos para la variedad crónica, ambos tipos de inflamación se redujeron significativamente por los tratamientos en el transcurso del estudio. Los efectos secundarios fueron mínimos debido a la toxicidad excepcionalmente baja de la *Moringa* incluso a dosis altas (Sulaiman, Zakaria, Bujarimin, Somchit, Israfi y Moin, 2008).

## **Bases Teóricas**

### ***Aproximación teórica sobre los metabolitos secundarios de las plantas***

En las plantas hay una gran cantidad de compuestos orgánicos no implicados directamente en su crecimiento y desarrollo; estas sustancias son conocidas como metabolitos secundarios, productos secundarios o productos naturales, (Taiz y Zeiger, 2006) y son fuente de compuestos biológicamente activos que pueden utilizarse en medicina herbolaria tradicional o bien en la medicina moderna para el consumo animal y del ser humano (Anaya, Espinosa y Cruz, 2001). El daño ocasionado por heridas y ataques externos a las plantas superiores, induce la síntesis de compuestos de bajo peso molecular (metabolitos secundarios). Algunos de ellos pertenecen a grupos de alcaloides, terpenoides y fenilpropanoides, los cuales participan contra el microorganismo, matándolo o restringiendo su invasión al resto de la planta. Al mismo tiempo, otros metabolitos secundarios contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal, las cuales se sintetizan durante las etapas tempranas de la respuesta de defensa. (Sepúlveda, Porta, Rocha, 2003).

### ***Aproximación teórica sobre los fitoquímicos***

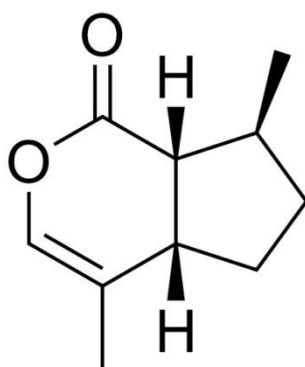
Los fitoquímicos son compuestos orgánicos de origen vegetal, que proporcionan al alimento propiedades fisiológicas que van más allá de las nutricionales propiamente dichas. Estas sustancias parecen ser responsables, al menos en parte, del papel beneficioso para la salud asociado al consumo de frutas y hortalizas y alimentos derivados de ellas. Existen diversas familias químicas que poseen estructuras y propiedades muy variadas, como son: polifenoles, entre los que se incluyen los pigmentos antociánicos, taninos, flavonoles, isoflavonas, lignanos,

estilbenoides y derivados de ácidos aromáticos, los glucosinolatos, compuestos terpenoides, como los carotenoides y el limoneno, entre otros (Santos, Tomás, 2001). La correlación entre la ingestión de compuestos polifenólicos y el beneficio para la salud ha sido referida en diversos artículos sobre estudios epidemiológicos. Actualmente, se desconoce el mecanismo por el cual los fitoquímicos actúan favoreciendo la salud, sin embargo, se presume que se deba tanto a efectos individuales como a interacciones con otros compuestos propios del vegetal (Gil, 2010).

### ***Aproximación teórica sobre la Actividad Antiinflamatoria del extracto de *Moringa* sp***

El efecto antiinflamatorio de sustancias de origen vegetal tiene gran utilidad debido a las ventajas que ofrecen sus múltiples beneficios y baja incidencia de efectos secundarios (Gómez, González y Medina, 2011).

Los extractos de *Moringa* poseen actividad antiinflamatoria que podría atribuirse a sus agentes bioactivos como flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, esteroides, glucósidos y alcaloides (Tamrat, Nedi, Assefa, Teklehaymanot y Shibeshi, 2017). En experimentos *in vivo* de extractos acuosos se ha demostrado una notable reducción del edema inducido por carragenina (Ndiaye *et al.*, 2002). Su uso en concentraciones adecuadas, muestra una importante inhibición tanto en la producción de citocinas proinflamatorias, como de óxido nítrico y mediadores de la respuesta inmune (Vasanth *et al.* 2015).

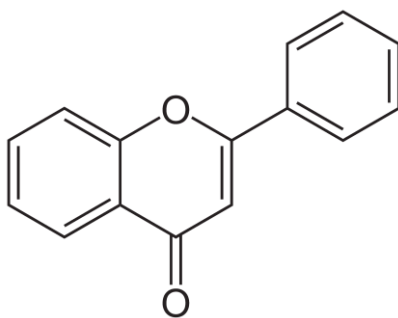


**Figura 1. Terpenoide**

### **Composición Química de la *Moringa* sp**

Esta contiene altos niveles de caroteno (vitamina A), vitaminas B1, B2, B3, C, E, K, además de calcio, hierro, potasio, cobre, magnesio, zinc, todos los aminoácidos esenciales y antioxidantes (ácido ascórbico, flavonoides, fenoles, caratenoides, entre otros). La *Moringa* también es rica en ramnosa, un azúcar simple, glucosinatos e isotiocianatos. Sus raíces contienen los alcaloides moringina y moringininea, además de otros ingredientes, tales como: fitosterol, ceras, resinas, zeatina, quercetina, ácido cafeoilquínico, pterigospermina y kaempferol (Bonaf, Rivera y Bolívar, 2012).

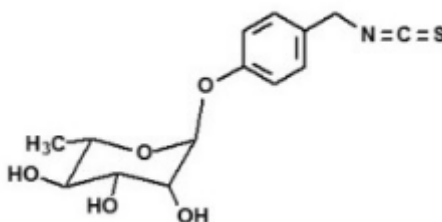
**Flavonoides:** engloba numerosos componentes naturales distribuidos en varias familias, siendo los más importantes las flavonas e isoflavonas. Se trata de pigmentos naturales que proporcionan color a las plantas. Muchas de sus funciones son antioxidantes, pero también antivirales, antiinflamatorias y anticancerígenas (Causse, 2010).



**Figura 2. Flavonoide**

**Alcaloides:** estos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas nitrogenadas. Aunque estrictamente se considera que los alcaloides deben tener al menos un átomo de nitrógeno heterocíclico, el nitrógeno puede formar parte de una amina ya sea primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria. La mayoría de ellos se encuentran en forma de sales de ácidos orgánicos, en otros puede haber un ácido especial

asociado al alcaloide; y otros se encuentran de forma de glucósidos o de esteres de ácidos orgánicos. Son producido y almacenados por cualquier parte de la planta (Orandy, Rivas y Verde, 2016).



**Figura 3. Moringina**

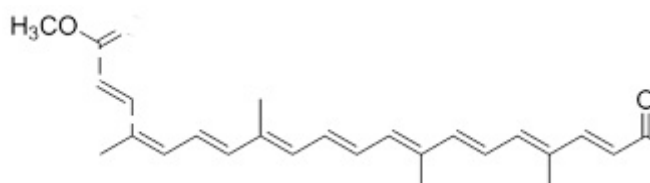
### ***Descripción de la Moringa sp***

La *Moringa* se trata de un árbol que proviene de la familia Moringaceae, pertenece al género *Moringa* del cual hay 14 especies entre las que oleífera ha ganado popularidad por su cantidad de bondades. Posee diversos nombres regionales que se derivan de la raíz “Morunga”. En inglés es conocido como árbol de rábano, palo de tambor, el que nunca muere, el árbol de Ben y otros nombres, tiene una alta tasa de crecimiento de hasta 4 m por año, y puede llegar a medir desde 5 hasta 15 m y tiene un promedio de vida de 20 años (Uquillas, 2017). Las hojas frescas de *Moringa* tienen grandes cualidades nutritivas: más vitamina A que las zanahorias, más vitamina C que las naranjas, más calcio que la leche, más potasio que el plátano, más hierro que la espinaca y más proteína que ningún otro vegetal. También son muy apetecidas, con ellas se pueden preparar infusiones, ensaladas verdes, pastas para bocaditos, salsas, sopas o cremas, guisos, arroz salteado, frituras, y aliños en general. Pueden ser mezcladas con jugos o cocteles de frutas, con diferentes platos de huevo y en el puré de los niños, entre otras variantes, lo cual enriquecería notablemente el valor nutricional en cuanto a proteínas, vitaminas y minerales de dichos alimentos. Estas hojas pueden secarse a la sombra y conservarse enteras o molidas. En esta última

variante, el polvo permanece por meses sin perder sus propiedades, además de que resulta útil para ser usado como condimento o ser añadido a sopas, caldos y jugos, entre otros. Las flores son ricas en calcio y potasio, pueden consumirse crudas o cocinadas, acompañando ensaladas, sopas, otros platos y como infusiones. De las semillas se extrae un aceite similar al de oliva, muy bueno para el aliño de ensaladas. Estas, tiernas y hervidas en agua, son similares a los garbanzos; secas y tostadas, recuerdan al maní. Por su parte, el fruto es una vaina o cápsula triangular, ampliamente consumida en forma de guisos, es famoso por sus propiedades afrodisíacas, rico en proteínas, aminoácidos esenciales y múltiples vitaminas (*Ibid*, 2012).

### ***Propiedades de la Moringa sp***

Sus aparentes efectos terapéuticos podrían deberse a las acciones combinadas de diversos componentes bioactivos que se encuentran en la planta, como iones trazas de metales, vitaminas, alcaloides, carotenoides, polifenoles, grasas, carbohidratos y proteínas. Las hojas de *Moringa oleifera* contienen fitosteroles como el  $\beta$ -sitosterol, capaces de reducir la absorción intestinal de colesterol en la dieta. El polvo de hoja de *M. oleifera* también contiene aproximadamente 12% (p / p) de fibras. Una de las acciones terapéuticas recurrentes de la medicación de *M. oleifera* es la actividad antioxidante relativamente alta de sus hojas, flores y semillas. Entre las principales clases de fitoquímicos que se encuentran en la planta, los flavonoides parecen llevar la mayor parte de esta actividad. Se ha demostrado que los extractos de hojas de *M. oleifera* modulan la inmunidad humoral y celular en ratas y ratones, ha exhibido potentes propiedades antiinflamatorias en modelos de roedores de inflamación de pata inducida químicamente. Estas propiedades se han estudiado más extensamente con extractos de frutas y semillas. También pueden contribuir a los efectos anti-aterogénicos y antidiabéticos observados de la terapia con *M. oleifera* (Mbikay, 2012).



**Figura 4. Carotenoide**

### ***Inflamación***

De acuerdo con el Diccionario de la Real Academia Española (2014), esta se define como una “Alteración patológica en una parte cualquiera del organismo, caracterizada por trastornos de la circulación de la sangre y, frecuentemente, por aumento de calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor”.

#### ***Fases de la Inflamación***

1-Liberación de mediadores: Son moléculas, la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos. Aunque todos los tejidos al lesionarse van a liberar mediadores de la inflamación, la fuente principal de los mismos es el mastocito. Esta célula inmune inespecífica procede de la médula ósea y contiene en el citoplasma gránulos con mediadores de la inflamación preformados. Cuando se activa, libera estos factores, junto con otros de carácter lipídico que son sintetizados de novo. El mastocito se detecta en casi todos los tejidos, siendo localizado principalmente alrededor de los pequeños vasos, sobre los que actuarán los mediadores una vez liberados. La liberación de mediadores ocurre por distintas causas, pero quizás la más frecuente sea la lesión directa de la célula por parte de un agente agresivo. Cuando la inflamación progresa y se acumulan en el foco suficientes factores activados del complemento, el C3a y el C5a, actuando sobre receptores de membrana, inducen la activación del mastocito y la consiguiente liberación de mediadores. Otro mecanismo de activación se desarrolla mediante la IgE que es captada en

la membrana del mastocito, ya que éste presenta receptores para la porción Fc de esta inmunoglobulina (FceR). El antígeno activa al mastocito cuando conecta específicamente con dos IgE contiguas sobre la membrana. Los mecanismos que subyacen a este proceso no son aún bien conocidos. Parece que el proceso se inicia en la membrana con activación de adenilato-ciclasa, la cual incrementa inicialmente la concentración intracitoplasmática de cAMP, y de fosfolipasa A2, que ataca lípidos de membrana, produciendo ácido araquidónico. También aumenta la permeabilidad de membrana al  $\text{Ca}^{++}$ , con lo que se incrementa su concentración en el citoplasma. El aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  y el del AMPc determinan la formación de microtúbulos en el mastocito, así como el movimiento de gránulos citoplasmáticos hacia la membrana celular, produciéndose posteriormente la fusión de los gránulos con ésta y la liberación de mediadores al espacio extracelular. Estos mediadores, que se encontraban preformados en los gránulos, son principalmente histamina, enzimas proteolíticas, el factor quimiotáctico del eosinófilo (ECF-A), factor quimiotáctico del neutrófilo y heparina. El ácido araquidónico formado puede seguir dos vías metabólicas: la de la enzima ciclo-oxigenasa que determina la producción de prostaglandinas (PG) y tromboxanos y la de la lipooxigenasa que conduce a la formación de leucotrienos (LT). Todas estas sustancias de carácter lipídico, sintetizadas de novo por el mastocito, son un segundo grupo importante de mediadores de la inflamación. Además, acude a los tejidos durante el proceso inflamatorio, el basófilo que supone un refuerzo en la liberación de mediadores ya que se activa por los mismos mecanismos que el mastocito, liberando mediadores equivalentes.

2-Efecto de los mediadores: una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Estas moléculas son mediadores preformados, como la histamina, presente principalmente en el mastocito y basófilo produciendo vasodilatación e incremento de la permeabilidad en los receptores H1, mientras que en los H2, provoca

inhibición o regulación de la inflamación; las enzimas proteolíticas, liberadas por el mastocito y su acción induce vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y estimulación de terminaciones nerviosas del dolor; los factores quimiotácticos, que inducen activación de eosinófilos y neutrófilos y la heparina que inhibe la coagulación y por ende, favorece la llegada de células y moléculas sanguíneas; además de mediadores sintetizados de novo, como las prostaglandina E2 (PGE2), más importante en este proceso, involucrada en la vasodilatación y dolor; el leucotrieno B4 (LTB4), factor quimiotáctico para eosinófilos, neutrófilos, mastocitos y macrófagos; y el factor activador de plaquetas (PAF), que estimula la agregación plaquetaria, liberación de mediadores y proceso de coagulación, vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular y quimiotaxis de neutrófilos.

3-Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio procedentes en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes. Los mediadores de la inflamación van a producir básicamente dos efectos. En una primera fase inicial, alteraciones vasculares que facilitan el trasvase de moléculas, como inmunoglobulinas, factores del complemento, cinógenos, proteínas de fase aguda y factores de coagulación, desde la sangre al foco inflamatorio, así como la producción de edema. En una segunda fase, más tardía, las propias alteraciones vasculares, así como la liberación en el foco de factores quimiotácticos, determinan la llegada de células inmunes procedentes de la sangre y de los tejidos circundantes: basófilos, neutrófilos, macrófagos y monocitos, linfocitos T y B, eosinófilos (Bordes, Martínez, García y Guisado, s.f.).

4-Regulación del proceso inflamatorio: Algunos de los mediadores que producen activación, al variar su concentración o actuar sobre distintos receptores, van a producir inhibición, equilibrando o modulando la respuesta inflamatoria. Los factores que intervienen en la regulación son: la histamina, inhibiendo al mastocito, basófilo y neutrófilo, la quimiotaxis y activando células T supresoras; la PGE, inhibe mastocitos y basófilos, así

como proliferación y diferenciación de linfocitos; agonistas autonómicos, es decir, propios de las células; la heparina, inhibiendo la agregación plaquetaria y el eosinófilos que liberan enzimas que degradan mediadores proinflamatorios (*ibid*).

5-Reparación: es la fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria. Estos procesos integran la llegada a la zona de fibroblastos que proliferan y sintetizan colágeno, multiplicación de células epiteliales y proliferación de vasos dentro de la herida. Posiblemente la IL-1 es la responsable de la activación de los fibroblastos (*ibid*).

### ***Determinación de la actividad antiinflamatoria de la Moringa sp***

#### ***Método de Edema auricular inducido por xilol en ratones***

El xilol es un agente irritante, que provoca una inflamación de origen neurogénico, asociada a la sustancia P, liberada por el mesencéfalo en respuesta al agente agresor, esto facilita la neurotransmisión dopaminérgica de las neuronas sensoriales, con la consecuente liberación de mediadores inflamatorios como histamina, serotonina, bradicinina y prostaglandinas, originando vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar. La inflamación generada por este método, es inhibida por antiinflamatorios esteroideos que inhiben la fosfolipasa A2 y en menor grado por los antiinflamatorios no esteroideos (Villalobos y Ríos, 2017).

### **Definición Operacional de Términos**

#### ***Inflamación Aguda***

Es la respuesta inicial e inmediata ante una lesión. Su objetivo es suministrar leucocitos para ayudar a eliminar invasores e iniciar el proceso

de degradación de tejidos necróticos. Consta de dos procesos: cambios vasculares, en los que los vasos alteran su calibre para incrementar el riego sanguíneo y permitir a las proteínas plasmáticas abandonar la circulación; y la migración leucocitaria al foco de lesión (Kumar, Cotran y Robbins, 2006).

### ***Inflamación Crónica***

Es considerada una inflamación prolongada en la cual la inflamación activa, la lesión hística y resolución ocurren simultáneamente. Se caracteriza por infiltración de mononucleares: macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, destrucción del tejido y reparación con proliferación de nuevos vasos y fibrosis (*ibid*).

### ***Infusión***

Las plantas (hojas, flores y sumidades floridas) se extraen con agua caliente, pero sin someterlas a ebullición; el agua se vierte sobre ellas, manteniendo bien cerrado el recipiente, durante aproximadamente treinta minutos (Albornoz, 1980).

### ***Alimento funcional***

Son alimentos que se consumen como parte de la dieta, y que además de su función nutricional básica, presenta propiedades fisiológicas o disminuye el riesgo de contraer ciertas enfermedades (Aranceta y Gil, 2010).

### **Operacionalización de Variables**

Las variables se operacionalizaron para convertir los conceptos abstractos en empíricos, con el fin de medirlos a través de un instrumento y una metodología pertinente (Palella y Martins, 2006).

## Hipótesis

**Hipótesis Nula:** No existe relación entre la actividad antiinflamatoria *in vivo* y la infusión de *Moringa* sp.

**Hipótesis Alternativa:** Sí existe relación entre la actividad antiinflamatoria *in vivo* y la infusión de *Moringa* sp

**Tabla 1. Operacionalización de la variable dependiente actividad antiinflamatoria de la infusión de *Moringa* sp**

| 1. Variable                                                    | 2. Tipo de variable                                                                                                   | 3. Definición conceptual<br>¿Qué es?                                                             |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actividad antiinflamatoria de la infusión de <i>Moringa</i> sp | Dependiente<br>Cualitativa<br>Continua                                                                                | Capacidad para suprimir los signos y síntomas de la inflamación (Gómez, González, Medina, 2011). |
| 4. Definición operacional<br>¿Cómo se mide?                    | 5. Dimensiones                                                                                                        | 6. Indicador                                                                                     |
| Edema auricular de la rata                                     | -Actividad antiinflamatoria ausente<br>-Actividad antiinflamatoria leve<br>Actividad antiinflamatoria intensa/potente | -Disminución del diámetro de la zona inflamada                                                   |

Fuente: Uzcátegui, Jerez, Ríos, Hernández, 2017

**Tabla 2. Operacionalización de la variable independiente infusión de *Moringa* sp**

| 1. Variable                                 | 2. Tipo de variable                                         | 3. Definición conceptual<br>¿Qué es?                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Infusión de <i>Moringa</i> sp               | Independiente<br>Cualitativa<br>Discreta                    | Descrita como el "árbol milagroso", "árbol baqueta" o "árbol de rábano picante", en ciertas ocasiones, tiene hojas pequeñas y redondeadas, que están llenas de una increíble cantidad de nutrientes: proteína, calcio, beta caroteno, vitamina C, potasio, entre otros (Mercola, 2015). |
| 4. Definición operacional<br>¿Cómo se mide? | 5. Dimensiones                                              | 6. Indicador                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| -Extracción con agua                        | -Extracto fluidos<br>-Extractos secos<br>-Extractos blandos | Concentraciones de la infusión a las dosis de 100 y 50 mg/kg.                                                                                                                                                                                                                           |

Fuente: Uzcátegui, Jerez, Ríos, Hernández, 2017

### **CAPÍTULO III**

#### **MARCO METODOLÓGICO**

##### **Tipo de Investigación**

Hurtado (2015), refiere que el tipo de investigación se relaciona con la interrogante del estudio, en la cual se resalta lo que se quiere saber, pues esto marca el logro general que se desea conseguir en el proceso de la investigación. Por tanto, el verbo a utilizar en el objetivo debe implicar un logro. En esta investigación se quiso saber si existe relación entre los elementos del evento de estudio, es decir, se busca la probable relación entre la actividad antiinflamatoria y la infusión de *Moringa* sp por el método de edema auricular inducido por xilol en una unidad de estudio y contexto determinados. Es por ello que este trabajo correspondió a una investigación de tipo confirmatoria.

##### **Diseño de investigación**

Según Hurtado (2015), el diseño de una investigación se debe determinar por medio de estrategias implementadas para recolectar información en una fuente determinada, tiempo específico y en cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En tal sentido, esta investigación tuvo un Diseño experimental, ya que la hipótesis puede ser comprobada mediante la experimentación, y de campo, ya que los datos fueron recolectados en un ambiente natural, el Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes y en un ambiente creado, tal como el Laboratorio de Medicamentos orgánicos “Dr. Ramón Masini Osuna” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad

de los Andes. En cuanto a su temporalidad, fue contemporánea y transeccional, además, tuvo una amplitud multivariable.

## **Población y Muestra**

### ***Unidad de Investigación***

El grupo de estudio estuvo representado por ratones machos del Bioterio de la Universidad de Los Andes empleando dos modelos *in vivo* de inflamación aguda.

Selección del Tamaño Muestral:

La “n” muestral correspondió a 6 ratones machos BIOU:NMRI por grupo. Como existen antecedentes sobre la investigación el valor  $p=0,86$  (Zanini et.al, 1992), donde:

$n$ =tamaño de la muestra  $p+q=1$  por lo tanto; tenemos  $q=1-0,86=0,14$

$z$ =nivel de confianza (90%)

$p$ =variabilidad positiva (0,86)

$n=z^2.p.q/e^2$

$q$ =variabilidad negativa (0,14)

$e$ =error muestral admisible (23%)

$n=(1,645)^2.0,86.0,14/(0,23)^2= 6$

## **Sistema de Variables**

Las variables relacionadas con esta investigación fueron: Variable Dependiente (VD): Actividad Antiinflamatoria (Disminución del diámetro de la zona inflamada) y Variable Independiente (VI): infusión de *Moringa* sp (50 mg/kg y 100 mg/kg). Las variables mencionadas estuvieron relacionadas con la línea de investigación y permitieron verificar el fenómeno de estudio en la unidad de investigación.

## Metodología de Investigación

### *Recolección del material vegetal*

Las hojas de *Moringa* se recolectaron en el Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

### *Preparación de la infusión*

La infusión empleada se preparó a partir de 2,5 g de material vegetal seco y molido a polvo grueso y 50 mL de agua hirviendo. Se dejó en reposo durante 20 minutos y posteriormente se filtró. La infusión así preparada se administró a las dosis previstas:

#### **Dosis de infusión a ensayar: 50mg/kg y 100 mg/kg**

**Solución madre:** 2,5g en 50ml del agua

50mg de infusión ----- 1000g peso ratón (entre 20-32g peso de los ratones)

X -----→ 32g ratón

X= 1,6 mg infusión-----→ 2500mg ----- 50ml

1,6mg ----- X= 0,032ml (**Dosis 50mg/kg**)

Ratón 20g----- 0,02ml

Ratón 25g----- 0,025ml ≈ 0,03ml

1mg de infusión <----- 20g ratón

100mg de infusión ----- 1000g peso ratón

X ----->32g

X= 3,2mg de infusión --→ 2500mg infusión----- 50ml

3,2mg infusión -----X= 0,064ml (**Dosis 100mg/kg**)

|                        |                 |           |
|------------------------|-----------------|-----------|
| 2mg de infusión <----- | 20g ratón ----- | X= 0,04ml |
| 25g----- 2,5mg         | 25g ratón ----- | X= 0,05ml |
| 26g----- 2,6mg         | 26g ratón ----- | X=0,052ml |
| 27g----- 2,7mg         | 27g ratón ----- | X=0,054ml |
| 28g----- 2,8mg         | 28g ratón ----- | X=0,056ml |

|                       |                   |                       |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Dosis 50mg/kg</b>  | <b>Peso ratón</b> | Entre 20g-24g =0,02ml |
|                       |                   | Entre 25g-32g =0,03ml |
| <b>Dosis 100mg/kg</b> | <b>Peso ratón</b> | Entre 20g-24g =0,04ml |
|                       |                   | Entre 25g-27g =0,05ml |
|                       |                   | Entre 28g-32g =0,06ml |

### ***Método del Edema Auricular***

#### ***Por vía intramuscular***

www.bdigital.ula.ve

En esta investigación se utilizaron 6 ratones machos BIOU:NMRI por grupo, la actividad antiinflamatoria se evaluó *in vivo* en el laboratorio de Química de Medicamentos orgánicos Dr. Ramón Masini Osuna de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

- **Animales de experimentación:** los animales utilizados fueron proporcionados por el Bioterio de la Universidad de los Andes. Para el estudio de la actividad antiinflamatoria se utilizaron ratones BIOU: NMRI machos con un peso entre 20-32 g. Los animales se mantuvieron con dieta comercial y agua *ad libitum*, se colocaron en un ambiente climatizado de  $22 \pm 1$  °C; con ciclos de 12 horas de luz y oscuridad. Todo el ensayo se realizó en el Laboratorio de Química de Medicamentos orgánicos Dr. Ramón Masini Osuna de la Facultad de

Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes de acuerdo a normas éticas para el uso y cuidado de animales.

- **Preparación de las muestras:** los compuestos fueron disueltos en agua y administrados por vía intramuscular. Se ensayaron dos dosis: 50 mg/kg y 100 mg/kg, considerando que al evaluar la actividad antiinflamatoria aguda de compuestos puros es conveniente no sobrepasar los 100 mg/kg (CYTED, 1995).
- **Preparación de controles positivos:** la actividad antiinflamatoria se estudió frente a fármacos de conocida actividad antiinflamatoria como son dexametasona<sup>®</sup> (1 mg/kg) y diclofenac<sup>®</sup> (10 mg/kg), los cuales fueron administrados por vía intramuscular (IM) en la pata derecha del animal.
- **Preparación de control negativo:** se utilizó como control negativo solución fisiológica, la cual se administró por vía intramuscular (IM) en la pata derecha del animal.
- **Agente irritante:** el xilol (20 µL) fue utilizado como agente irritante inductor de la inflamación aguda, aplicado con una micropipeta en la superficie interna de la oreja derecha.

### ***Protocolo de Experimentación***

- 1) Rotular las cajas de los animales de experimentación por grupo: grupo control negativo, grupo control positivo, grupo muestra 50mg/kg y grupo muestra 100 mg/kg.
- 2) Pesar cada uno de los ratones e identificar con marcadores de colores cada ratón por grupo.
- 3) Administrar todas las sustancias por vía intramuscular en la pata derecha. Media hora después de la administración de cada uno de los tratamientos, se aplica con una micropipeta en la superficie interna de la oreja derecha 20 µL de xilol, el cual fue

utilizado como agente irritante inductor de la inflamación aguda.

Ayudar a secar con secador luego de aplicar a todos los ratones

- 4) Transcurridas tres horas después de aplicar el xilol, se sacrifican los animales por dislocación cervical y con un molde se cortan secciones circulares (6 mm) de ambas orejas, las cuales se pesan en balanza analítica. Posteriormente, se determina la intensidad del edema en oreja (EO), por la diferencia de peso entre la oreja derecha e izquierda.

Finalmente, se calculará el % de inflamación (% I) y el % de inhibición de la inflamación (% Inh), mediante las siguientes fórmulas:

$$\% I = EO_{gt} \times 100 / EO_{gc} \text{ (Fórmula 7) Dónde:}$$

EO<sub>gt</sub>= grado del edema en el grupo tratado con extractos

EO<sub>gc</sub>= grado del edema en el grupo control (vehículo)

$$\% Inh = 100 - \% I$$

www.bdigital.ula.ve

### **Diseño de Análisis**

Todos los resultados se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las diferencias entre los grupos experimentales fueron estudiadas utilizando análisis de varianza de una vía (One way ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para comparaciones múltiples y la prueba T de student para muestras independientes. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativo. Para los análisis estadísticos se emplearon los programas Excel (Microsoft) y SPSS versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se tomaron 30 ratones machos BIOU: NMRI provenientes del Bioterio de la Universidad de los Andes, distribuyéndose en 5 grupos de 6 ratones cada uno, obteniéndose los siguientes resultados:

**Tabla 3. Evaluación *in vivo* de la Actividad Antiinflamatoria por el método de edema auricular inducido por xilol. Grupos control**

| Grupo                         | Dosis (mg/kg) | $\Delta E$ (mg) | Inhibición Edema (%) |
|-------------------------------|---------------|-----------------|----------------------|
| <b>Grupo control negativo</b> |               |                 |                      |
| Control sol. fisiológica      | -             | 4,31±1,61       | -                    |
| <b>Grupo control positivo</b> |               |                 |                      |
| Dexametasona                  | 1             | 0,7±0,64        | 83,76                |
| Diclofenac sódico             | 10            | 1,55±0,73       | 64,04                |

$\Delta E$ : Edema resultado de la diferencia de medias de los pesos (mg) de la oreja derecha e izquierda n= 6, comparado con el control de solución fisiológica. Datos esperados como media  $\pm$  D.S.

Según los datos obtenidos en el control negativo, el promedio de la diferencia de edema ( $\Delta E$ ), es de 4,31 mg; el cual representa el 100 % de inflamación presente en los mismos.

En el grupo control positivo dexametasona, el promedio hallado fue de 0,7 mg; lo cual representa un 16,24 % de Inflamación; es decir, la inhibición de la inflamación presentada en el grupo de ratones fue de 83,76 %.

Respecto al grupo control positivo diclofenac sódico, se obtuvo un promedio de 1,55 mg; representado por un 35,96 % de inflamación; con lo cual la inhibición de la inflamación fue de 64,04 %.

**Tabla 4. Evaluación *in vivo* de la Actividad Antiinflamatoria por el método de edema auricular inducido por xilol. Grupo infusión a 50 y 100 mg/kg**

| Dosis (mg/kg) | $\Delta E$ (mg) | Inflamación (%) | Inhibición Edema (%) |
|---------------|-----------------|-----------------|----------------------|
| 50            | 1,83 $\pm$ 0,74 | 41,76           | 58,24                |
| 100           | 1,7 $\pm$ 0,63  | 39,44           | 60,56                |

$\Delta E$ : Edema resultado de la diferencia de medias de los pesos (mg) de la oreja derecha e izquierda n= 6, comparado con el control de solución fisiológica. Datos esperados como media  $\pm$  D.S.

Al ensayar la dosis de 50 mg/kg, el promedio de la diferencia de edema fue de 1,83 mg; por tanto, se obtuvo 41,76 % de inflamación en los ratones; y la actividad antiinflamatoria fue de 58,24 %.

Por otra parte, el promedio registrado en el grupo de 100 mg/kg, fue de 1,7 mg; por tanto mostró 39,44 % de inflamación; con lo cual la inhibición de la inflamación fue de 60,56 %.

www.bdigital.ula.ve

**Figura 5. Efecto antiinflamatorio de la infusión de *Moringa* sp a 50 y 100 mg/kg frente a controles positivos y negativo**

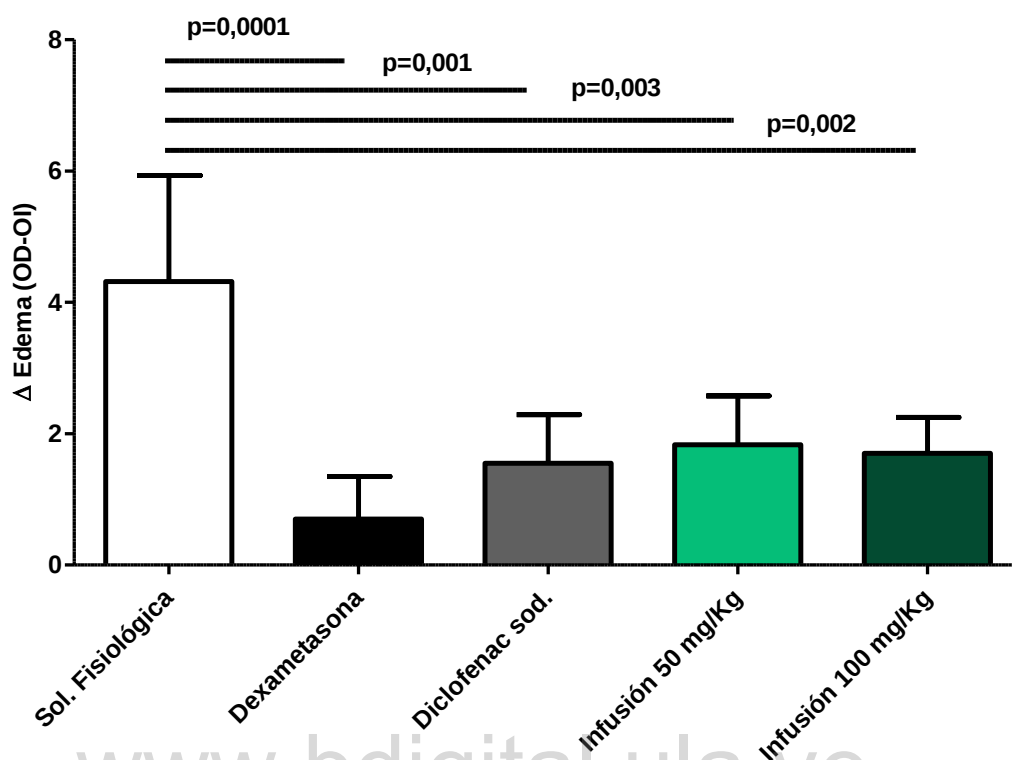


Figura 5. Efecto antiinflamatorio de las sustancias medidas como disminución del Edema en el modelo experimental. Las barras muestran los valores promedios y la desviación estándar. La diferencia entre medias se evaluó con la prueba de ANOVA, se obtuvo un valor de  $p=0,0001$ . Se realizó un post test con la prueba de Scheffe, los valores de  $p$  significativos se muestran en la gráfica. La significancia estadística se consideró para valores de  $p < 0,05$ .

La actividad antiinflamatoria de la infusión de *Moringa* sp fue evaluada *in vivo* por el método de edema auricular inducido por xilol, descrito en el capítulo anterior. Se ensayaron las dosis de 50 y 100 mg/kg.

La administración de 20  $\mu$ L de xilol en la oreja derecha de los ratones provocó un nivel de edema de 4,31 mg para el grupo control, tratado con solución fisiológica (Tabla 3). Mientras que en los fármacos antiinflamatorios usados como controles positivos, se observó una inflamación de 0,7 mg con dexametasona y 1,55 mg con diclofenac sódico (Tabla 3). Estos resultados fueron significativamente menores a los observados en el grupo control negativo (control de solución fisiológica) ( $p<0.05$ ).

Los antecedentes relacionados con el método muestran que la inflamación aguda generada por xilol es inhibida por antiinflamatorios esteroideos que bloquean la fosfolipasa A2 y en menor grado por los no esteroideos (Villalobos y Ríos, 2017). De tal manera que, se obtuvo 83,76 % de inhibición de la inflamación con dexametasona, y 64,04 % con diclofenac sódico. Por tanto, el método puede ser utilizado para evaluar compuestos de naturaleza esteroidea y no esteroidea.

Se considera como actividad antiinflamatoria moderada la inhibición de edema del 35-65 % y como buen efecto antiinflamatorio un valor mayor a 65 % (González, Ospina y Rincón, 2011). Con base en ello, la infusión de *Moringa* sp presentó una actividad antiinflamatoria moderada a las dosis de 50 y 100 mg/kg.

En correspondencia con Xu, Chen y Guo (2019), quienes realizaron comparaciones fitoquímicas en distintas partes de la *Moringa*, encontraron un alto contenido de flavonoides en las hojas de esta planta, tales como: rutina, glucósidos de quercetina y glucósidos de kaempferol, siendo estos responsables en gran medida de su actividad antiinflamatoria.

En concordancia con nuestra investigación, Tamrat *et al.* (2017), obtuvieron una reducción del edema en la fracción acuosa de hojas de *Moringa* sp, en el cual se demostró una reducción del edema significativa, respecto al control negativo. A la dosis de 100 mg/kg se evidenció un 47,0 % de inhibición de la inflamación, siendo este porcentaje menor al resultante en nuestra investigación (60,56 %). Sin embargo, las dosis estudiadas por estos autores fueron 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, en las que se observó un efecto dosis dependiente.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

Posterior a la discusión de los resultados, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- La infusión de *Moringa* sp por el método de edema auricular inducido por xilol en ratones BIOU: NMRI, presentó actividad antiinflamatoria. Esta fue moderada puesto que osciló entre el 58,24 y 60,56 % a las dosis de 50 y 100 mg/kg, respectivamente.
- Las dosis estudiadas no demostraron diferencia significativa en cuanto a su acción antiinflamatoria. No obstante, es importante resaltar que porcentualmente a mayor dosis se observó mayor actividad antiinflamatoria
- La *Moringa* sp es un alimento funcional, debido su efectiva propiedad antiinflamatoria.

## RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones posteriores utilizando este método y unidad de investigación evaluando otras dosis distintas, de manera tal que se puedan establecer resultados de mayor alcance
- Utilizar esta investigación como base comparativa para contrastar esta unidad de estudio con hembras BIOU: NMRI
- Analizar otras posibles actividades biológicas de la *Moringa* sp utilizando el método estudiado
- Utilizar los principios activos presentes en la infusión de *Moringa* sp para la elaboración de formas farmacéuticas
- Evaluar la posible toxicidad de la infusión de *Moringa* sp

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Adejumo O. E., Kolapo A. L., and Folarin A.O. (2012). *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) grown in Nigeria: In vitro antisickling activity on deoxygenated erythrocyte cells. ***Journal of pharmacy & bioallied sciences***, **4**(2): 118–122. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3341715/>
- Albornoz, A. (1980). *Productos naturales sustancias y drogas extraídas de las plantas*. Universidad Central de Venezuela, Caracas Venezuela. Librería Sánchez. Barcelona, España.
- Alhakmani, F., Kumar, S., and Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, *in-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. ***Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine***, **3**(8), 623–627. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3703555/>
- Anaya, A., Espinosa, F., Cruz, R. (2001). Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación [Libro en línea]. México: Plaza y Valdes Editores. Disponible: <https://books.google.co.ve/books?id=8Gt7CoKx3W4C&pg=PA738&dq=metabolitos+secundarios+drogas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjSh-vXkKXXAhUJ5SYKHZ0TBtkQ6AEIVDAI#v=onepage&q=metabolitos%20secundarios%20drogas&f=false>[consulta: 2017, noviembre 01].
- Aranceta, J., Gil, A. (2010). Alimentos funcionales y salud en la etapa infantil y juvenil [Libro en línea]. Madrid: Médica Panamericana, DL. Disponible: [https://books.google.co.ve/books?id=9O03337S6B0C&printsec=fro ntcover&dq=alimentos+funcionales&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjW9\\_GY-tXwAhUsh-AKHZ\\_ZAvAQ6AEwAHoECAMQAg#v=onepage&q=alimentos%20funcionales&f=false](https://books.google.co.ve/books?id=9O03337S6B0C&printsec=fro ntcover&dq=alimentos+funcionales&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjW9_GY-tXwAhUsh-AKHZ_ZAvAQ6AEwAHoECAMQAg#v=onepage&q=alimentos%20funcionales&f=false).

- Bonal, R., Rivera, R. M. y Bolívar, M. A. (2012). *Moringa oleifera*: una opción saludable para el bienestar. **MEDISAN**, **16**(10), 1596-1599. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192012001000014&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012001000014&lng=es&tlng=es).
- Bordes, R., Martínez, M., García, E., y Guisado, R. (s.f.). El Proceso Inflamatorio. Granada: **Universidad de Castilla- La Mancha**. Recuperado de: <https://previa.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflatatorio4.htm>
- Causse, C. (2010). **Los secretos de salud de los antioxidantes**. Barcelona: Editorial Hispano Europea. 44-45.
- Cuevas, G., Miralles, R., García, A. (2015). Materiales de floristería [Libro en línea]. España: Ediciones Paraninfo, S. A. Disponible: <https://books.google.co.ve/books?id=Fcp3BwAAQBAJ&pg=PA50&dq=liofilizacion+vegetal&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi6hob5zonYAhWLON8KHdLFAEoQ6AEIJjAA#v=onepage&q=liofilizacion%20vegetal&f=false>
- Ezeamuzie, I. C., Ambakederemo, A. W., Shode, F. O., and Ekwebelem, S. C. (1996). Antiinflammatory Effects of *Moringa oleifera* Root Extract. **International Journal of Pharmacognosy**, **34**(3), 207-212. Recuperado de: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1076/phbi.34.3.207.13211?journalCode=iphb19>
- Giacoppo S., Rajan T. S., De Nicola G. R., Iori R., Rollin P., Bramanti P., and Mazzon E. (2017). The Isothiocyanate Isolated from *Moringa oleifera* Shows Potent Anti-Inflammatory Activity in the Treatment of Murine Subacute Parkinson's Disease. **Rejuvenation Research**, **20**(1), 50-63. Recuperado de: <https://doi.org/10.1089/rej.2016.1828>
- Gil, A. (2010) Tratado de Nutrición [Libro en línea]. Madrid: Editorial Médica Panamericana. Disponible:

[https://books.google.co.ve/books?id=hcwBJ0FNvqYC&printsec=frontcover&source=gbg\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.ve/books?id=hcwBJ0FNvqYC&printsec=frontcover&source=gbg_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

- Gómez, H. A., González, K. N., Medina J. D. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, 10(3), 182-217. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85618379003>
- González, M.C., Ospina L. F. Rincón, J. (2011). Actividad Antiinflamatoria de extractos y fracciones de *Myrcianthes leucoxila*, *Calea prunifolia*, *Curatella americana* y *Physalis peruviana* en los modelos edema auricular por TPA, edema plantar por carragenina y artritis inducida por colágeno. **Biosalud**, 10, (1), 11. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v10n1/v10n1a02.pdf>
- Hernández-Sampieri, R. (2010). Definición del alcance de la investigación a realizar. Exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa. En: *Metodología de la Investigación*. 5ta ed. Chile: Mc Graw Hill; pp. 78-87.
- Hurtado, J. (2015) **El proyecto de investigación**. Caracas: ediciones Quirón. pp. 89-90.
- Jaja-Chimedza A, Graf B. L., Simmler C, Kim Y, Kuhn P, Pauli G. F., and Raskin, I. (2017) Biochemical characterization and anti-inflammatory properties of an isothiocyanate-enriched moringa (*Moringa oleifera*) seed extract. **PLOS ONE**, 12(8). Recuperado de: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0182658>
- Kumar, V., Cotran, R. S., y Robbins, S. L. (2006). Patología Humana [Libro en línea]. Madrid: Elsevier Sciences. Disponible: <https://books.google.co.ve/books?id=gtGTaRtupkUC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Martin, F. W., Ruberté, R. M. and Meitzner, L. S. (1998). **Edible Leaves of the Tropics**. U.S. ECHO.

- Mbikay, M. (2012). Therapeutic Potential of *Moringa oleifera* Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review. **Frontiers in Pharmacology**, 3(24). Recuperado de: <http://doi.org/10.3389/fphar.2012.00024>
- Mercola, J. (06 de septiembre de 2015). Los Múltiples Beneficios del Poderoso Árbol Moringa [Blog]. Recuperado de: <https://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2015/09/06/los-beneficios-de-la-moringa.aspx>
- Minaiyan, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M., and Nasr-Esfahani, S. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, 4(2), 127–136. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103706/>
- Ndiaye M., Dieye A. M., Mariko F., Tall A., Sall A., and Faye B. (2002). Contribution a l'etude de l'activite anti-inflammatoire de moringa oleifera (moringaceae). **Dakar Med.** 47(2), 210–212. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15776678>
- Olaya, J. M., Mendez J. (2003). Guía de plantas y productos medicinales [Libro en línea]. España: Convenio Andrés Bello. Disponible: [https://books.google.co.ve/books?id=0Zs6HmaBy\\_gC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.ve/books?id=0Zs6HmaBy_gC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false)
- Palella, S., y Martins, F. (2006). **La investigación cuantitativa, las variables. En: Metodología Cuantitativa.** Caracas: FEDUPEL. 73-81.
- Real Academia Española. (2014). **Diccionario de la Real Academia Española.** 23<sup>a</sup> edición. Recuperado de: <http://dle.rae.es/?id=LXK3yEj>
- Remirez, D. (2005). Determinación del posible efecto Anti-inflamatorio (vía oral) del producto denominado Quina procedente de los Laboratorios Nutramedix, LLC, Florida. Trabajo de investigación, Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Disponible: <http://nutramedix.ec/pdfs/Quinaantiinflamatorio1.pdf>

- Santos, C. y Tomás, F. (2001). Sustancias fitoquímicas de frutas y hortalizas, su posible papel beneficioso para la salud. **Horticultura**. Recuperado de: <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/108217-Sustancias-fitoquimicas-de-frutas-y-hortalizas-su-posible-papel-beneficioso-para-la-salud.html>
- Sepúlveda, G., Porta, H., Rocha, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. **Revista Mexicana de Fisiopatología**, **21**(3), 355-363. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221317>
- Sulaiman, M. R., Zakaria, Z. A., Bujarimin, A. S., Somchit, M. N., Israf, D. A., and Moin, S. (2008). Evaluation of *Moringa oleifera* Aqueous Extract for Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities in Animal Models. **Pharmaceutical Biology**, **46**(12), 838-845. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/13880200802366710>. T
- Tamrat, Y., Nedi, T., Assefa, S., Teklehaymanot, T., & Shibeshi, W. (2017). Anti-inflammatory and analgesic activities of solvent fractions of the leaves of *Moringa stenopetala* Bak. (Moringaceae) in mice models. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, **17**(473). Recuperado de: <http://doi.org/10.1186/s12906-017-1982-y>
- Téllez, G. (1998). Tratado de Cirugía Cardiovascular [Libro en línea]. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S. A. Disponible: <https://books.google.co.ve/books?id=IJfiopavoqMC&pg=PA63&dq=heparina&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiJgsj-vIjYAhXOYt8KHQQQAesQ6AEIKjAB#v=onepage&q=heparina&f=false> [consulta: 2017, diciembre 13].
- Torres, J. A., Sinagawa, S. R., Martínez, G. C., López, A. B., Sánchez, E. I., Aguirre, V. E., Torres, R. I., Olivares, E., Osorio, E., Gutiérrez, A. (2013). *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. **Phyton**, **82**(2), 193-202. Recuperado de:

[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572013000200006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572013000200006&lng=es&tlng=es).

- Uquillas, N. J. (2017). *Moringa y su uso culinario*. Trabajo de investigación, Universidad de los Hemisferios, Quito. Disponible: <http://dspace.uhemisferios.edu.ec:8080/jspui/bitstream/123456789/691/1/TESIS%20FINAL.pdf>[consulta: 2017, diciembre 13].
- Vasanth, K., Minakshi, G. C., Ilango, K., Mohan, R., Agrawal, A., and Dubey, G. P. (2015). *Moringa oleifera* attenuates the release of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide stimulated human monocytic cell line. **Industrial Crops and Products**. **77**, 44-50. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015303149?via%3Dihub#!>
- Villalobos, D., Ríos, N. (2017). Actividad antiinflamatoria *in vivo* de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier. **Rev Fac Farm.** **59** (2): 16-23. Recuperado de: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/45136/art4.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Waterman, C., Cheng, D. M., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Ann, M., and Raskin, I. (2014). Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation *in vitro*. **Phytochemistry**, **103**, 114–122. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071966/#S8title>
- Xu, Y., Chen, G., and Guo, M. (2019). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and Their Correlations with Flavonoids. **Antioxidants (Basel)**. **8** (8): 296. Recuperado de: doi:10.3390/antiox8080296
- Zanini, J. C., Medeiros, Y. S., Cruz, A. B., Yunes, R. R., Calixto, J. B. (1992). Action of compounds from *Mandevilla velutina* on croton oil-induced ear oedema in mice. A comparative study with steroidal and nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Phytotherapy Research**, **6**(1), 1-5. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.2650060102/abstract>

**ANEXOS**  
www.bdigital.ula.ve

**Tabla de recolección y registro de datos: Grupos de infusión de  
Moringa sp**

**GRUPO 1: Extracto de Moringa, dosis: 50 mg/Kg**

| RATON Nº | Peso (g) | Identificación de color (marcador) | DOSIS (ml) | Hora de aplicación del extracto | Hora de aplicación del xilol | Hora de sacrificio | Peso oreja derecha (g) | Peso oreja izquierda(g) | Δ edema (g) (OD-OI) |
|----------|----------|------------------------------------|------------|---------------------------------|------------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|
| 1        | 32g      | Negro                              | 0,03       | 11:55 a.m.                      | 12:25 p.m.                   | 3:25 p.m.          | 0,0123g                | 0,0109g                 | 0,0014g             |
| 2        | 32g      | Rojo                               | 0,03       | 12:01 p.m.                      | 12:31 p.m.                   | 3:31 p.m.          | 0,0142g                | 0,0115g                 | 0,0027g             |
| 3        | 30g      | Azul                               | 0,03       | 12:10 p.m.                      | 12:40 p.m.                   | 3:40 p.m.          | 0,0110g                | 0,0102g                 | 0,0014g             |
| 4        | 28g      | Morado                             | 0,03       | 12:16 p.m.                      | 12:46 p.m.                   | 3:46 p.m.          | 0,0121g                | 0,0111g                 | 0,0010g             |
| 5        | 21g      | Marrón                             | 0,02       | 12:23 p.m.                      | 12:53 p.m.                   | 3:53 p.m.          | 0,0120g                | 0,0092g                 | 0,0028g             |
| 6        | 25g      | Verde                              | 0,03       | 12:32 p.m.                      | 1:02 p.m.                    | 4:02 p.m.          | 0,0124g                | 0,0107g                 | 0,0017g             |

X= 0,0018g

**GRUPO 2: Extracto de Moringa, dosis: 100 mg/Kg**

| RATON Nº | Peso (g) | Identificación de color (marcador) | DOSIS (ml) | Hora de aplicación del extracto | Hora de aplicación del xilol | Hora de sacrificio | Peso oreja derecha (g) | Peso oreja izquierda(g) | Δ edema (g) (OD-OI) |
|----------|----------|------------------------------------|------------|---------------------------------|------------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|
| 1        | 23g      | Negro                              | 0,04       | 12:45 p.m.                      | 1:15 p.m.                    | 4:15 p.m.          | 0,0127g                | 0,0103g                 | 0,0024g             |
| 2        | 23g      | Rojo                               | 0,04       | 12:56 p.m.                      | 1:26 p.m.                    | 4:26 p.m.          | 0,0109g                | 0,0097g                 | 0,0012g             |
| 3        | 24g      | Azul                               | 0,04       | 1:05 p.m.                       | 1:35 p.m.                    | 4:35 p.m.          | 0,0122g                | 0,0107g                 | 0,0015g             |
| 4        | 23g      | Morado                             | 0,04       | 1:10 p.m.                       | 1:40 p.m.                    | 4:40 p.m.          | 0,0121g                | 0,0098g                 | 0,0023g             |
| 5        | 24g      | Marrón                             | 0,04       | 1:19 p.m.                       | 1:49 p.m.                    | 4:49 p.m.          | 0,0133g                | 0,0122g                 | 0,0011g             |
| 6        | 27g      | Verde                              | 0,05       | 1:29 p.m.                       | 1:59 p.m.                    | 4:59 p.m.          | 0,0140g                | 0,0123g                 | 0,0017g             |

X= 0,0017g