

**UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL
DESARROLLO**



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

**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE UN GEL A BASE DE
ACEITE ESENCIAL DE *Citrus Sinensis* (NARANJA) EN RATAS
INDUCIDAS A INFLAMACIÓN CON CARRAGENINA**

AUTORES

Ccarhuas Ibañez, Natividad
Cristóbal Morales, Gheraldine
Nieto Atencia, Michel
Ñaupá Galindo, Carmelita
Manco Malpica Luis Allende
Castro Rodríguez Augusto Robert

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A Dios por guiarnos por el buen camino, a nuestros padres y docentes que confiaron en nosotros para seguir adelante y lograr nuestras metas propuestas.

Natividad

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por su incondicional y desinteresado apoyo y por los valores mostrados para salir adelante.

Gheraldina

A mis hermanos por enseñarme a cultivar la lealtad y guiarme a ser persona de bien.

Michel

A mis padres, amigos y familiares por su incondicional apoyo brindado en todo el trayecto de mi formación profesional y contribuir a cumplir mis metas

Carmelita

AGRADECIMIENTOS

A Nuestros docentes de la facultad de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica por su generosa disposición para apoyarnos con sus sabios consejos y enseñanzas que nos permitió culminar nuestro proyecto de investigación

A Dios por poner en mi camino a docentes especializados en su área farmacéutica y sobre todo con voluntad de enseñar y demostrar sus habilidades para ser un gran profesional.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Dedicatoria	2
Agradecimiento	3
Índice general	4
Índice tablas	6
Índice de figuras	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
1.1. Descripción de la realidad problemática	11
1.2. Formulación del Problemas	12
1.2.1. Problema general	12
1.2.2. Problemas específicos	12
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo general	12
1.3.2. Objetivos específicos	12
1.4. Justificación	13
CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS	14
2.1. Antecedentes	14
2.1.1. Antecedentes Nacionales	14
2.1.2. Antecedentes Internacionales	15
2.2. Bases teóricas	16
2.3. Hipótesis y Variables	22
2.3.1. Hipótesis general	22
2.3.2. Hipótesis específicas	23

2.4. Operacionalización de variables e indicadores	23
CAPÍTULO III: MÉTODODOLOGÍA	24
3.1. Tipo y nivel de investigación	24
3.2. Descripción del método y diseño	24
3.3. Población y muestra	29
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	29
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	30
4.1. Presentación de resultados	30
4.2. Discusión	35
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
5.1. Conclusiones	37
5.2. Recomendaciones	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Porcentaje de rendimiento de producción del aceite esencial de cáscara de la naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	30
Tabla 2. Resultados del ensayo de parámetros físicos del aceite esencial de la cáscara de naranja	30
Tabla 3. Resultados del ensayo de parámetros químico de índice de acidez del aceite esencial de la cáscara de naranja	31
Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico del aceite esencial de la cáscara de naranja <i>Citrus sinensis</i>	31
Tabla 5. Valores medios de la medida de la inflamación y porcentaje de eficacia según grupos de tratamiento en diferentes tiempos	32
Tabla 6. Análisis de varianza del efecto antiinflamatorio del gel a base de aceite de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	33
Tabla 7. Análisis de Tukey para la media de la eficiencia antiinflamatoria durante las 24 horas de observación	34
Tabla 8. Análisis Dunnett según tiempo y grupos de tratamiento	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del aceite esencial de la cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	33

RESUMEN

El principal objetivo de la investigación fue determinar la actividad antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) en ratas inducidas a inflamación con carragenina. El diseño fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal, el aceite esencial se obtuvo por arrastre de vapor de agua. Se realizaron medidas físicas y químicas al aceite esencial. Se usó la carragenina 1% en volumen de 0.1 mL para inducir edema plantar a cada rata. La muestra de estudio fue de 24 ratas dividida al azar en cuatro grupos. El primer grupo recibió solución salina fisiológica, al segundo y tercer grupo recibió vía tópica gel a base de aceite esencial al 1% y 2% respectivamente, el cuarto grupo recibió diclofenaco en gel 2% vía tópica. Se halló que el rendimiento de producción del aceite esencial de cáscara de naranja fue de 1.2%, pH 5, índice de acidez 43.2 y evidenció ser soluble en etanol (70% y 90%) y en éter etílico. Así mismo se observó reacción positiva para flavonoides, triterpenos y limoneno. Por otro lado, mostró tener actividad antiinflamatoria de 13% y 27% con gel a base de aceite esencial al 1% y 2% respectivamente el cual es significativo con respecto al grupo control ($p < 0.05$) y, comparado con el grupo de diclofenaco la actividad fue menor. El efecto aumentó conforme pasó el tiempo, a las 24 horas evidenció mejor actividad antiinflamatoria. Se concluye que el gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) tiene actividad antiinflamatoria según condiciones experimentales del presente estudio.

Palabras clave. *Citrus sinensis*, naranja, ratas

ABSTRAC

The main objective of the research was to determine the anti-inflammatory activity of the gel based on essential oil of *Citrus sinensis* (orange) in rats induced inflammation with carrageenan. The design was experimental, prospective and longitudinal, the essential oil was obtained by water vapor drag. Physical and chemical measurements were made of the essential oil. Carrageenan 1% by volume of 0.1 mL was used to induce plantar edema in each rat. The study sample was 24 rats divided randomly into four groups. The first group received physiological saline, the second and third group received topical gel based on essential oil at 1% and 2% respectively, the fourth group received diclofenac on 2% gel topically. It was found that the production yield of the orange peel essential oil was 1.2%, pH 5, acidity index 43.2 and showed to be soluble in ethanol (70% and 90%) and in ethyl ether. Likewise, a positive reaction was observed for flavonoids, triterpenes and limonene. On the other hand, it showed to have anti-inflammatory activity of 13% and 27% with gel based on essential oil at 1% and 2% respectively, which is significant with respect to the control group ($p < 0.05$) and, compared with the diclofenac group, activity was lower. The effect increased as time passed, at 24 hours it showed better anti-inflammatory activity. It is concluded that the gel based on essential oil of *Citrus sinensis* (orange) has anti-inflammatory activity according to experimental conditions of the present study.

Keywords. *Citrus sinensis*, orange, rats

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales se encuentran en diversas especies vegetales, con frecuencia se suelen encontrar en hojas, flores y semillas, se caracterizan por ser líquidos volátiles, en su mayoría son insolubles en agua, se disuelven con facilidad en alcohol, minerales, éter y aceites vegetales. Por lo general, no son oleosos al tacto. Los aceites pueden contener normalmente hidrocarburos aromáticos y/o alicíclicos, así como sus derivados oxigenados, como los alcoholes, cetonas, aldehídos, ésteres, sustancias azufradas y/o nitrogenadas (1).

Las plantas medicinales son aceptadas por la población de diferentes condiciones socioeconómicas y culturales y cada vez están ocupando mayor lugar para el tratamiento de enfermedades agudas y crónicas, se vale con frecuencia del conocimiento del saber tradicional que sirven como fuente para inicio de investigaciones en especial los preclínicos. Para las investigaciones pre clínicas se suelen emplear animales de experimentación, los más usados son los roedores como los ratones y ratas. En el presente estudio es una investigación experimental preclínico, se usó rata como material biológico y se empleó método validado para evaluar la actividad antiinflamatoria, el método consistió en formar edema plantar en pata de la rata por el empleo de carragenina[®] como inductor químico de inflamación. Luego de aplicar la metodología experimental se halló que el aceite obtenida de la cáscara de naranja y formulada en forma de gel tiene efecto antiinflamatorio, el cual podría estar relacionado con la presencia de flavonoides presente en el aceite y potenciado con los otros componentes como el limoneno y los triterpenos.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Las plantas medicinales contienen diversos compuestos químicos a los que se le conoce como fitocomplejos, los cuales actuarían en forma sinérgica frente a diversas enfermedades y producen reducidos efectos adversos ⁽²⁾. Para evaluar una nueva molécula frente a estados patológicos se realizan experimentos preclínicos luego clínicos, en estudio preclínico se emplean con frecuencia roedores como material biológico, a los que se les induce por medios físicos, químicos o biológicos patologías que luego deben ser tratados con fármacos de referencia y las sustancias de prueba. La inflamación que es un proceso muy complejo y puede ser producto de diferentes enfermedades agudos o crónicos, suelen asociarse al estrés oxidativo y producir daño celular ⁽³⁾. Estos procesos inflamatorios además afectan la economía de las personas, por ello es un tema de interés investigar nuevas opciones terapéuticas con menores efectos adversos, menores costo y de mayor accesibilidad a la población, una de las opciones derivan de obtener moléculas activas a partir de plantas medicinales. La producción de naranja en la selva del Perú tiene una gran importancia en el departamento de Lima, este fruto es utilizado para la producción de jugo de naranja. Los desechos, como la cáscara de naranja no son tratados para una utilidad. En nuestra ciudad la cascara de naranja es desechada por los vendedores todos los días, al final del día llega a eliminarse junto a la basura, contaminado el medio ambiente ya que en el tiempo estos serán un foco infeccioso. Usar este recurso para utilidad terapéutica es importante, así mismo contribuye a disminuir la contaminación del medio ambiente.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

1. ¿El gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) tendrá actividad antiinflamatoria en ratas inducidas a inflamación con carragenina?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Cuál será el rendimiento de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) por arrastre de vapor de agua?
2. ¿Cuáles serán los componentes fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *Citrus sinensis*?
3. ¿Cuál será la eficacia antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) en ratas inducidas a inflamación con carragenina?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

1. Determinar la actividad antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) en ratas inducidas a inflamación con carragenina

1.3.2. Objetivos específicos

1. Determinar el rendimiento de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) por arrastre de vapor de agua
2. Determinar los componentes fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja)
3. Determinar la eficacia antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) en ratas inducidas a inflamación con carragenina

1.4 Justificación

Para el tratamiento de la inflamación existen variados fármacos de uso habitual en la población, los más usados son los antiinflamatorios no esteroides, estos fármacos con frecuencia suelen causar efectos adversos como; disfunción cardiovascular, renal y/o hepática, gastritis, alteraciones hematológicas, reacciones de hipersensibilidad; en este sentido, resulta importante la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento en especial de los derivados de plantas medicinales por ofrecer menor efectos adversos y mejor acceso a la población. En nuestro estudio se aprovecha la cáscara de la naranja que normalmente se desperdicia junto con otros desechos comunes en especial por los vendedores de jugos de naranja. Se pretende con nuestro estudio, contribuir al mejor conocimiento y en una forma farmacéutica sobre las propiedades antiinflamatorias del aceite esencial obtenida de la cáscara de naranja, así mismo brindar nueva alternativa a los esquemas actuales y a menor costo, además los vendedores de jugo de naranja podrían comercializar la cáscara con fines terapéuticos, el cual generaría mayor demanda y mayor producción de *Citrus sinensis* (naranja).

CAPITULO II: FUNDAMENTOS TEORICOS

2.1. Antecedentes de la investigacion

2.1.1. Antecedentes nacionales

Llontop S, et al ⁽⁴⁾ 2015. Realizaron el estudio “Extracción y caracterización del aceite esencial y pectina de naranja (*Citrus sinensis*) obtenidos de los desechos recolectados en las juguerías del mercado modelo del distrito de Lambayeque”. Nos dice que el estudio fue de tipo experimental, prospectivo, longitudinal, primero caracterizaron las naranjas y cáscara de naranja mediante análisis físico químico. Seguido, extrajeron el aceite esencial y la pectina y así mismo se realizaron análisis físico químicos para caracterizar estos sub productos. Hallaron que la naranja empleada presentó 20.2% de cáscara y 6.37% de zumo. Las medidas biométricas de las naranjas evaluadas fueron: longitud 78.5 mm, Peso 275.69 g y diámetro 80.5 mm. Las características físico químicas fueron: humedad 87,61%, proteína total 0.58%, grasa 0.19%, fibra cruda 0.3%, ceniza 0.26%, extracto libre de nitrógeno 11.06% y Acidez (expresado en ácido cítrico) 0.97%.

Reategui L ⁽⁵⁾ 2014. Realizo el estudio “hidro extracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara de naranja”. Nos dice que, el estudio fue de tipo experimental, usó la hidro extracción, realizó una batería de 19 pruebas para la obtención de materia prima para la fase de fraccionamiento del aceite esencial, así como para evaluar su rendimiento y composición. Obtuvieron un aceite refinado con las siguientes características fisicoquímicas: Gravedad específica a 20°C 0.8424, índice de refracción 1.472, Rotación óptica +100° y temperatura de ebullición 175°C.

Juárez J, et al ⁽⁶⁾ 2010. Realizaron el estudio “composición química, actividad antibacteriana del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. (naranja dulce) y formulación de una forma farmacéutica”. Nos dicen que, el aceite esencial lo obtuvieron del pericarpio de las naranjas seleccionadas, usaron un sistema de hidrodestilación con arrastre de vapor de agua; así mismo, realizaron ensayos de miscibilidad y determinaron las constantes físicas,

como: gravedad específica, índice de refracción y rotación óptica. Formularon un gel con base de carbomer, una loción con base de etanol y alcohol isopropílico, así como un colutorio. Hallaron que los estudios de estabilidad de las formulaciones, así como de tolerancia e irritabilidad con el tejido humano de los productos elaborados muestran resultados favorables para su utilización en enfermedades de la piel, como el acné, y en el caso del colutorio como un buen antiséptico bucal.

2.1.2. Antecedentes internacionales

Duchén E ⁽⁷⁾. 2011. Realizo el "obtención experimental de aceite esencial y subproducto a partir de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*). Refieren que, obtuvieron el aceite esencial de la cáscara de naranja por destilación de arrastre de vapor de agua. Recolectaron la cáscara de naranja en los puestos de venta de jugos de naranja en la ciudad de La Paz - Bolivia. En el aceite evaluaron el contenido de D-Limoneno así el óptimo rendimiento y la calidad del aceite. La retorta (cáscara de naranja que quedó luego de la destilación) y el hidrolato (el agua que se destiló junto con el aceite) resultante de la extracción del aceite, fue tratado por medio de un biodigestor y a partir de ellos se obtuvo los subproductos como el biogás y el bioabono de los cuales se tomaron en cuenta las características de estos productos, demostraron que se obtuvo un producto de alta calidad. Indican que el proyecto contribuye a demostrar factibilidad técnica de este método para la obtención del aceite, para que en un futuro pueda realizarse a nivel planta piloto.

Yáñez R. et al ⁽⁸⁾. 2007. Realizaron el "estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). Refieren que, obtuvieron el aceite por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (HDMO). El análisis por Cromatografía de Gases de Alta Resolución (CGAR) permitió identificar como componente volátil mayoritario del aceite esencial al monoterpeno oxigenado limoneno con un 90,93%.

Germán M. et al ⁽⁹⁾. 2012. Realizaron el estudio “diseño y evaluación in vivo de formulaciones para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum L*) y ácido acético”. Refieren que, la resistencia a cepas bacterianas involucradas en el acné es una realidad y se hace necesario buscar alternativas terapéuticas para su tratamiento. El estudio fue de tipo experimental usaron tres fórmulas en gel sobre cuatro grupos de siete pacientes. Los tratamientos antibacterianos (aceites esenciales), queratolíticos y mixtos (ácido acético), se aplicaron diariamente por espacio de ocho semanas. Semanalmente se evaluaron la evolución de los pacientes. Los grupos tratados reportaron mejoría (desaparición de las lesiones) de la condición del acné, la cual osciló entre 43 y 75 %, con leves efectos secundarios transitorios relacionados con la aplicación de los tratamientos utilizados. Las fórmulas empleadas mostraron ser estables química y físicamente durante la aplicación de los tratamientos, lo cual se demostró mediante análisis de cromatografía de gases, en la cual no se evidenció ningún cambio en los perfiles de composición de los aceites esenciales ni en el del ácido acético. Los resultados se catalogaron entre buenos y excelentes, en particular, el del ácido acético, que logró mejorías superiores al 75 %, dada su actividad mixta antiséptica y queratolítica. Los efectos secundarios (ardor y enrojecimiento) desaparecieron a los pocos minutos de realizada la aplicación y no impidieron el cumplimiento de los tratamientos

2.2 Bases Teóricas

2.2.1. *Citrus sinensis* (naranja)

a. Clasificación taxonómica del *Citrus sinensis*

Reino	: Plantae.
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Sapindale
Familia	: Rutaceae

Género : Citrus.
Especie : *Citrus sinensis*

b. Generalidades del Citrus sinensis

Las principales zonas productoras en el Perú son; Junín, Puno, Lima, Cusco, San Martín, Ica, Huánuco y Pasco. La naranja juega un importante papel en el sector agropecuario de Lima. La superficie que se cultiva representó en el 2007 el 1.8% de la superficie agrícola del país; en términos de valor, el cultivo genera más del 3% del total agrícola. La exportación de naranja en su forma transformada, el jugo concentrado de naranja, es un factor importante dentro de la balanza comercial agroalimentaria, pero con una participación modesta de apenas 1.2%, en promedio de los años 2005 y 2006. La naranja es una fruta cítrica comestible obtenida del naranjo dulce (*Citrus sinensis*), del naranjo amargo (*Citrus aurantium*) y de naranjos de otras variedades o híbridos, antiguos híbridos asiáticos originarios de India, Vietnam o el sureste de China ⁽¹⁰⁾. La cáscara es más o menos gruesa y endurecida, su pulpa está formada típicamente por once gajos u hollejos llenos de jugo, el cual contiene cantidad considerable de vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Se cultiva como un antiguo árbol ornamental.

c. Características de cultivo de las variedades

Durante la recolección se tiene en cuenta, características del fruto (tamaño, calidad de la corteza, cantidad de zumo, número de gajos, azúcares (g/l), acidez (g/l), semillas por fruto, color, rusticidad, resistencia a humedades, aguante en el árbol, problemas productivos, aptitud para consumo en fresco).

d. Algunas propiedades terapéuticas del aceite esencial de naranja

Se le atribuyen propiedades como carminativo, antiinflamatorio, antidepresivo, diurético, antiespasmódico, antiséptico, afrodisíaco, tónico, sedante y colagogo. Además de amplia variedad de usos domésticos, industriales y medicinales. En el plano alimentario, se usa para dar sabor a bebidas, postres y dulces. Industrialmente, se usa en jabones, lociones corporales, cremas anti-envejecimiento y también en concentrados para bebidas no alcohólicas, ambientadores, aerosoles, desodorantes, galletas, chocolates, dulces y productos de panadería ⁽¹¹⁾. Este aceite esencial se obtiene de las cáscaras de naranja por compresión en frío. Los principales componentes de este aceite son alfa pineno, citronelal, geranial, sabineno, mirceno, limoneno, linalol y neral ⁽¹²⁾.

e. Beneficios para la salud del aceite esencial de naranja

- **Antiinflamatorio:** Proporciona un alivio rápido y efectivo ante la inflamación, ya sea interna o externa. Sin importar la razón, si se trata de una ingesta excesiva, fiebre, infecciones, efectos secundarios de los antibióticos, gases, la ingestión de sustancias tóxicas o estupefacientes, el aceite esencial de naranja puede reducir la irritación y el dolor ⁽¹³⁾.
- **Antidepresivo:** El olor del aceite esencial de naranja atrae pensamientos agradables a la mente. Es por ello que se usa con frecuencia en aromaterapia. Crea una sensación feliz y relajada que funciona como un elevador de ánimo, perfecto para las personas que sufren de depresión o ansiedad crónica ⁽¹⁴⁾.
- **Antiespasmódico:** Los espasmos pueden causar muchos problemas de irritación o más graves como tos continua, convulsiones, calambres musculares y diarrea extrema. Para evitar estos efectos, los espasmos se deben tratar temprano o

prevenirse por completo. Esto se puede hacer con la ayuda de aceite esencial de naranja, que relaja los espasmos musculares y nerviosos ⁽¹⁵⁾.

- **Afrodisíaco:** Se le atribuye propiedades afrodisíacas leves. El uso sistemático y regular puede curar problemas como la frigidez, problemas de erección, impotencia, pérdida de interés en el sexo, y la disminución de la libido ⁽¹⁶⁾.
- **Antiséptico:** El aceite esencial de naranja puede evitar las infecciones ya que inhibe el crecimiento microbiano y desinfecta las heridas.
- **Carminativo:** Ayuda en la eliminación de gases en los intestinos. Los gases que se forman en los intestinos y ejercen presión hacia arriba, pueden ser incómodos, empuja contra los órganos internos produciendo dolores en el pecho, indigestión y malestar. Además puede causar incremento de la presión sanguínea, afectar negativamente a la salud del corazón y causar dolores de estómago agudos. El aceite esencial de naranja puede ayudar al control de estos problemas, ya que relaja los músculos abdominales favoreciendo de esta manera la expulsión los gases. Por otra parte, no deja forma de gas adicional ⁽¹⁷⁾.
- **Diurético:** El aceite de naranja puede eliminar las toxinas del cuerpo, promover la eliminación de líquidos, elimina las toxinas como el ácido úrico, la bilis, el exceso de sales, contaminantes y exceso de agua en el organismo ⁽¹⁸⁾.
- **Tónico:** Tonifica el sistema para que funcione en forma adecuada todo el cuerpo, mantiene el sistema metabólico en forma adecuada, contribuye a la fuerza e incrementa la inmunidad ⁽¹⁹⁾.
- **Sedantes:** Constituye una opción natural para el alivio de la ansiedad, la ira, la depresión y ciertas inflamaciones corporales.
- **Colagogo:** Promueve las secreciones de las glándulas, incluye la exocrina y endocrina. Se usa con frecuencia para promover

la menstruación, la lactancia, los jugos digestivos, la bilis, hormonas y enzimas ⁽²⁰⁾.

2.2.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos oleosos volátiles, se obtiene por algún método físico de extracción, son solubles parcialmente en etanol, cloroformo y en aceites fijos, son insolubles en agua. La mayoría está constituida por terpenos, una menor cantidad de sesquiterpenos, a partir de estos componentes se forman los compuestos oxigenados responsables del olor característico de la esencia en la que estén contenidos, como alcoholes, acetonas, fenoles, ácidos, aldehídos y ésteres ⁽²¹⁾. Algunos investigadores consideran que el aceite esencial es subproducto del metabolismo de la planta y que no tiene ninguna función. Sin embargo, otros investigadores consideran que los aceites esenciales en las hojas y flores, sirven para atraer a insectos polinizadores o que funciona como un repelente de ciertos depredadores ⁽²²⁾.

- **Limoneno.** Es una sustancia natural que se extrae a partir de los cítricos. Es responsable del olor característico a las naranjas y los limones. Es un monoterpeno industrialmente se utiliza para producir p-cimeno por deshidrogenación catalítica. En los últimos años su demanda ha experimentado un gran crecimiento para uso como disolvente biodegradable. Posee un un carbono asimétrico. Por lo tanto existen dos isómeros ópticos: el D-limoneno y el L-limoneno. La nomenclatura IUPAC correcta es R-limoneno y S-limoneno, pero se emplean con más asiduidad los prefijos D y L o alfa y beta. En los últimos años ha adquirido una singular importancia debido a su demanda como disolvente biodegradable. También se ha usado como componente aromático y es usado para sintetizar nuevos compuestos. El limoneno se considera un agente de transferencia de color limpio y ambientalmente inocuo con lo cual es utilizado en muchos procesos farmacéuticos y de

alimentos. El limoneno es usado, como disolvente de resinas, tintas, pigmentos, en la fabricación de adhesivos. Usado también por las industrias farmacéutica y alimentaria como componente aromático y para dar sabor ⁽²³⁾.

- **Linalol.** El linalol es un monoterpeno que se encuentra en los aceites esenciales de más de 200 plantas; como la lavanda (*lavanda officinalis*), semillas de cilantro (*Coriandrum sativum*) y albahaca (*Ocimum basilicum*), es el principal constituyente de los aceites de palo de rosa y aceite de hortensia con el 90 y 80% respectivamente. Se usa en jabones, aceites, productos tópicos y es uno de los productos químicos más usados en los productos cosméticos y la industria del perfume. Este monoterpeno ha mostrado fuerte actividad antimicrobial contra bacterias periodontopáticas y cariogénicas, actividad antifúngica propiedades ansiolíticas y anti-inflamatorias ⁽²⁴⁾.

- **Pineno.** Es uno de los monoterpenos más abundantes hallados aceites de coníferas y en la gran mayoría de aceites esenciales. Los pinenos son de gran valor como precursores de aromas y fragancias cuyos derivados se producen por oxidación y en menor cantidad por extracción directa de plantas ⁽²⁵⁾.

2.2.3. Métodos de extracción de aceites esenciales

La mayoría de los métodos están basados en las diferencias entre las propiedades físicas de los componentes de una mezcla como puntos de ebullición, densidad, presión de vapor, solubilidad, Uno de los métodos más empleados para la extracción de aceites esenciales es la destilación por arrastre con vapor ⁽²⁶⁾.

La destilación por arrastre con vapor es una técnica utilizada para la separación de sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otros productos no volátiles que se encuentran en la mezcla. Las sustancias arrastrables con vapor son inmiscibles en agua, tienen presión de vapor baja y punto de ebullición alto. Cuando se tienen mezclas de líquidos que no son

miscibles entre sí, se tiene un tipo de destilación que sigue la ley de Dalton sobre las presiones parciales ⁽²⁷⁾. Una ventaja importante de este método es que los compuestos de punto de ebullición alto, que se descomponen cerca de dichos puntos de ebullición, pueden destilarse con vapor de agua a una temperatura lo suficientemente baja para evitar la descomposición. Otra ventaja es su eficacia y bajo costo, ya que sólo se requiere agua y vapor, se usa con frecuencia para aislar y purificar aceites esenciales que se encuentran en hojas, semillas o cáscaras de algunas plantas.

La decantación consiste en separar componentes, siempre y cuando exista una diferencia significativa entre las densidades de las fases. Se efectúa vertiendo la fase superior (menos densa) o la inferior (más densa) ⁽²⁸⁾.

Extracción por disolventes muchos de los métodos para la obtención de aceites a partir de materias primas vegetales, se fundamentan en la extracción del aceite en base a la solubilidad del mismo en distintos disolventes. La solubilidad de un compuesto en un disolvente, es característica del compuesto y del disolvente a cualquier temperatura. Se conoce como extracción la separación de uno o más componentes de una mezcla mediante la diferencia de solubilidad que presentan dos líquidos no miscibles o bien consiste en disolver en un líquido, alguno de los componentes de una mezcla sólida, utilizando un disolvente adecuado ^(29,30).

2.3. Hipótesis

2.3.1 Hipótesis General

1. El gel a base de aceite esencial de *Citrus Sinensis* (naranja) tiene actividad antiinflamatorio en ratas inducidas a inflamación con carragenina

2.3.2. Hipótesis Específicas

1. El rendimiento de extracción del aceite esencial de *Citrus Sinensis* (naranja) es superior al 1% por cada 100 g de muestra.
2. Los componentes fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *Citrus Sinensis* (naranja) son flavonoides y terpenos
3. La eficacia antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) es en promedio de 20% en ratas inducidas a inflamación con carragenina

2.4. Operacionalización de variables e indicadores

V. INDEPENDIENTE:	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Gel a base de aceite esencial de <i>Citrus Sinensis</i> (naranja)	La naranja es un fruto cítrico, el jugo de sus frutos representa la mitad del peso de la fruta, y por lo tanto una gran cantidad de desecho de pulpa y cáscara es producido cada año a nivel mundial ⁽²⁹⁾ .	Componentes fitoquímicos	1. Flavonoides 2. Triterpenos 3. Grasas 4. Limoneno
V. DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Actividad antiinflamatorio	Los métodos preclínicos para evaluar actividad antiinflamatorio en animales de experimentación son variados, usualmente se emplea la carragenina para inducir inflamación normalmente en la pata de la rata, los cuales brindan información importante para uso clínico.	Edema plantar aguda	% de inhibición antiinflamatorio

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo Y Nivel De Investigación:

El presente trabajo de investigación es de tipo aplicado, de diseño experimental, con respecto al tiempo y número de medidas es prospectivo y longitudinal respectivamente.

3.2. Descripción del Método Y Diseño

1. Recolección de la cascara de naranja (*Citrus Sinensis*)

La muestra fue recolectada en diferentes puestos de venta de jugos de naranja de dos distritos de la ciudad de Lima: Puente Piedra y Ate Vitarte. La cascara de naranja (*Citrus Sinensis*) fue obtenida en forma de tiras.

2. Materiales y reactivos

2.1. Materia prima:

- 2 kg de cascara de naranja "*Citrus Sinensis*"

2.2. Reactivos

- Cloruro férrico
- Metanol
- Fenolftaleína
- KOH
- Éter

2.3. Materiales para destilación por arrastre de vapor

- Tubo de desprendimiento
- Nuez
- Mechero de Bunsen
- Tapones
- Matraz Erlenmeyer
- Embudo de decantación
- Aro de calentamiento
- Soporte universal

- Agarraderas
- Balones
- Refrigerante
- Vaso de precipitación

3. Obtención del aceite esencial

A. Preparación de la muestra:

- **Limpieza y Selección:** En esta etapa se eliminó los residuos y desechos que se encontraron en la cascara de naranja "*Citrus Sinensis*", luego fue cortado en trozos, se pesó 2 Kg de cascara de naranja de "*Citrus Sinensis*"
- **Extracción:** Se usó el método de destilación por arrastre de vapor de agua, se colocó en un balón la muestra más el agua luego se calentó hasta ebullición durante 3 horas, como producto del proceso se obtuvo dos fases una de agua y otra de aceite esencial.
- **Separación:** en esta etapa se utilizó el proceso de Decantación para separar las dos fases, quedó en la parte superior el aceite por su menor densidad, mientras el agua ocupó la parte inferior.
- **Envasado:** El aceite esencial se recolectó en un frasco de color ámbar, luego se selló para evitar el contacto con la luz.

B. Determinación del rendimiento del aceite esencial de la cascara de naranja "*Citrus Sinensis*"

A partir de 100 g de cascara de naranja "*Citrus Sinensis*", se obtuvo un rendimiento de aceite esencial (%RAE) lo cual se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\%RAE = \frac{\text{Vol.AE (ml)}}{P \text{ muestra (g)}} \times 100$$

%RAE: Porcentaje del rendimiento del aceite esencial

Vol.AE: Volumen del aceite esencial obtenidas en mililitros

P muestra: Peso de la muestra a destilar en gramos

4. Determinación de las características organolépticas:

a) Parámetros físicos del aceite esencial:

- **Solubilidad:** Es una medida de la capacidad de disolverse de una determinada sustancia (solute) en un determinado medio (disolvente).
- **Procedimiento.** Se colocó en 3 tubos de ensayo 0.5 mL de aceite esencial y luego se añadió a cada tubo 5ml de etanol 70%, 5 mL de etanol 90% y 5 mL éter etílico. Luego se agitó cada tubo y se observó en cada uno de ellos si se produjo algún enturbiamiento.
- **Determinación del pH.** Se determinó el pH mediante un papel indicador de pH

b) Parámetros químicos del aceite esencial:

- **Determinación del índice de Acidez:** Es la cantidad de miligramos de KOH necesarios para neutralizar a los ácidos liberados contenidos en 1 g de aceite esencial.
- **Procedimiento.** Se preparó una solución de partes iguales de alcohol – éter neutralizado. En un matraz se pesó 1 g de aceite esencial, luego se añadió 60 mL de alcohol – éter, más 3 gotas de fenolftaleína. Se agito la solución preparada para valorar con la solución de KOH 0.1N hasta que se observó una coloración ligeramente rosada.

Luego se anotó los mililitros gastados y se efectuó los cálculos según la siguiente formula:

$$IA = \frac{5.61 \times V}{P}$$

IA: Índice de acidez

V: El volumen en mililitros, de hidróxido de potasio utilizado.

P: El peso, en gramos de la muestra (aceite esencial)

5. Método para evaluar la actividad antiinflamatoria

Las ratas fueron pesadas y distribuidas al azar en cuatro grupos (n=6) y se administraron los siguientes tratamientos:

G1: Solución salina fisiológica (SSF)

G2: Gel de Aceite esencial al 1%.

G3: Gel de Aceite esencial al 2%.

G4: Diclofenaco gel 2%

La inducción de la inflamación se realizó con carragenina 1% en la pata de la rata. Todos los grupos fueron inducidos a inflamación de la pata izquierda de las ratas de los cuatro grupos mediante la inyección de 0.1 mL de una solución de carragenina- λ al 1% en SSF, administrada con jeringa de tuberculina en la región del metacarpo y en la pata derecha se inyectó vehículo de la solución.

6. Valoración del efecto antiinflamatorio

Medición del volumen de edema de las patas ⁽²⁹⁾

La medición de la inflamación se realizó mediante el uso de un pie de rey, el cual es un instrumento de medición que objetivamente permite captar las variaciones de distancia entre dos superficies simétricas. Las variaciones de distancia se registraron en milímetros.

Se realizaron 5 mediciones en la pata inflamada. La primera, previo a la inyección de carragenina (hora 0), continuando la medición a las 2, 4, 6 y 24 horas después de la inyección de la carragenina.

7. Método para el reconocimiento de limoneno

La comprobación de la presencia de dobles enlaces de limoneno, se realizó a través de una prueba con disolución acuosa de permanganato de potasio, que es agregada al aceite esencial que se quiere analizar. La prueba de la existencia de dobles o triples enlaces es positiva cuando la solución se vuelve incolora o de color café claro ⁽³⁰⁾.

8. Tamizaje Fitoquímico del aceite esencial de *Citrus Sinensis*

Para el tamizaje fitoquímico se pesó una pequeña muestra de extracto y se disolvió en etanol, seguido se añadió de III a V gotas de los siguientes reactivos: Liebermann-Burchard, Shinoda y Sudan para identificar esteroides y/o triterpenos, flavonoides y grasa respectivamente.

9. Preparación del gel antiinflamatorio

a. Fórmula para elaboración del gel

Insumos	Gel 1%	Gel 2%
Agua desionizada	54.1 g	54.1 g
Trietanolamina	0.3 g	0.3 g
Carbomero 940 USP.	6.0 g	6.0 g
Alcohol isopropilico USP.	5.0 g	5.0 g
Mentol USP	1.0 g	1.0 g
Aceite esencial de citrus sinensis 1%	5.75 g	11.5 g

b. Procedimiento de preparación

1. En recipiente apropiado, limpio y sanitizado de preferencia de acero inoxidable o vidrio, verter agua desionizada.
2. Seguidamente agitando moderadamente, dispersar en fracciones pequeñas a través de una tamiz evitando la formación de grumos agregar carbomero 940
3. Mantener la agitación enérgica por un tiempo no menor de 30 a 40 minutos, en el primer control del gel debe presentar un

aspecto uniforme y traslucido, no debe observarse puntos opacos o grumos.

4. En un recipiente limpio y sanitizado verter agua desionizada
5. Con agitación, verter sobre la preparación anterior el aceite esencial de *Citrus sinensis*.
6. La solución 5 mediante agitación, incorporar en fracciones pequeñas a la suspensión 3 y continuar agitando de 10 a 15 minutos.
7. Sobre un recipiente adecuado verter alcohol isopropilico.
8. Seguidamente disolver en la solución 7 el mentol. La solución 8 se incorpora con agitación sobre la suspensión 6 y mantener la agitación por 15 a 20 minutos.
9. Sobre la mezcla del paso 8, añadir gota a gota con agitación trietanolamina.
10. Mantener la agitación del preparado 10 de 10 a 15 minutos para uniformizar su aspecto.

3.3. Población y Muestra

3.3.1. Población

Se usaron ratas albinas hembras con peso entre 210 a 220 g

3.3.2. Muestras

24 ratas divididas en 4 grupos inducidas a edema plantar

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnica: observación directa

3.4.2. Instrumentos: Fichas de recolección de datos Ad hoc

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

1. Rendimiento de extracción del aceite esencial de la cascara de naranja "*Citrus sinensis*"

En la tabla 1 se aprecia, el porcentaje de rendimiento de producción de aceite esencial por arrastre de vapor de agua, por cada 100 g de cáscara de naranja se obtuvo 1.2 mL (1.2%), el cual fue hallado mediante la fórmula descrito en la metodología.

Tabla 1. Porcentaje de rendimiento de producción del aceite esencial de cáscara de la naranja (*Citrus sinensis*)

MUESTRA	PRODUCTO	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
Cáscara de naranja (100 g)	Aceite esencial	1.2 %

2. Parámetros físicos y químicos del aceite esencial de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

En la tabla 2 se observa los parámetros físicos observados en el análisis de solubilidad y pH del aceite esencial de la cáscara de naranja, el cual mostró ser soluble en etanol, éter etílico y tener pH ácido.

Tabla 2. Resultados del ensayo de parámetros físicos del aceite esencial de la cáscara de naranja

MUESTRA	ETANOL 70%	ETANOL 90%	ETER ETÍLICO	pH
ACEITE ESENCIAL	SOLUBLE	SOLUBLE	SOLUBLE	5

Fuente. Elaboración propia

En la tabla 3 se aprecia los parámetros químicos, como el índice de acidez el cual fue de 43.2. Así mismo en la tabla 4 se muestran los

resultados del tamizaje fitoquímico el cual se evidenció la presencia de esteroides y/o triterpenoides, flavonoides y grasas.

Tabla 3. Resultados del ensayo de parámetros químico de índice de acidez del aceite esencial de la cáscara de naranja

MUESTRA	INDICE DE ACIDEZ
ACEITE ESENCIAL	43.2

Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico del aceite esencial de la cáscara de naranja *Citrus sinensis*.

ENSAYOS	ACEITE ESENCIAL de <i>Citrus Sinensis</i>
Liebermann-Burchard TRITERPENOS	++
Shinoda FLAVONOIDES	+++
Sudan Grasa	+++
Permanganato de Potasio LIMONENO	+++

3. Resultados del ensayo de la actividad antiinflamatoria

El edema formado en la pata de la rata como signo de inflamación se midió con el instrumento pie de rey o vernier expresado en milímetros a las 0, 2, 4, 6 y 24 horas, se calculó la media de estas 5 mediciones. El grupo de diclofenaco gel 2% mostró mayor efecto antiinflamatorio (38%), seguido del grupo de gel de aceite de naranja al 2% y 1% con eficacia

de 27% y 13% respectivamente, las diferencias fueron significantes con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

Tabla 5. Valores medios de la medida de la inflamación y porcentaje de eficacia según grupos de tratamiento en diferentes tiempos

Grupo	N	Valor medio de inflamación (mm)					Valor medio de inflamación durante 24 horas (mm)	Eficacia antiinflamatoria (%)
		0 h	2 h	4 h	6 h	24 h		
Solución Salina Fisiológica 0.9% (5 mL/Kg)	6	1.6±0.5	5.7±1,0	5,8±0.4	5,3±0.5	4,2±0,4	4,5±0,3	0
Gel de aceite esencial de naranja 1 %	6	1.6±0,5	5,5±0,5	4,6±0.8	4,2±0,7	3,5±0,5	3,9±0,4	13
Gel de aceite esencial de naranja 2%	6	1.3±0.5	4,7±0.5	4,5±0.5	3,5±0,5	2,5±0,5	3,3±0,4	27
Gel de diclofenaco 2%	6	1.6±0.5	4,3±0.5	3,7±0,5	2,8±0,4	1,7±0,5	2,8±0,1	38

N = Número de ratas por grupos de tratamiento

$$\% \text{ Eficacia Antiinflamatoria} = 100 - (\text{Tratamiento} * 100 / \text{Solución Salina Fisiológica})$$

En la figura 1 se aprecia que la eficacia antiinflamatoria depende de la concentración del gel a base de aceite de cáscara de naranja, la concentración al 2% obtuvo mejor efecto que el 1%, ambos fueron superior al grupo control pero inferior al grupo de gel de diclofenaco 2% ($p < 0.05$).

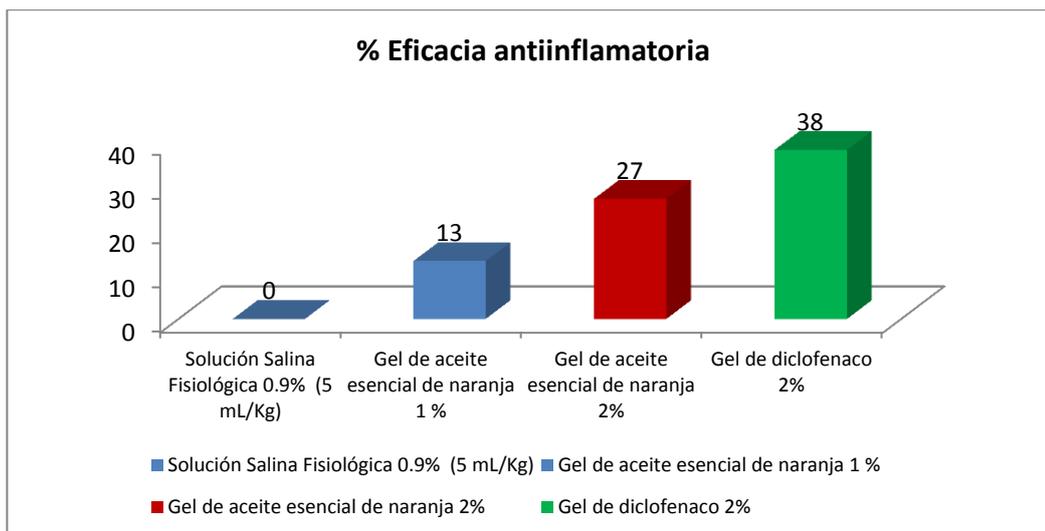


Figura 1. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del aceite esencial de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6. Análisis de varianza del efecto antiinflamatorio del gel a base de aceite de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 horas	Inter-grupos	.500	3	.167	.625	.607
	Intra-grupos	5.333	20	.267		
	Total	5.833	23			
2 horas	Inter-grupos	7.458	3	2.486	5.234	.008
	Intra-grupos	9.500	20	.475		
	Total	16.958	23			
4 horas	Inter-grupos	14.458	3	4.819	14.829	.000
	Intra-grupos	6.500	20	.325		
	Total	20.958	23			
6 horas	Inter-grupos	20.458	3	6.819	20.983	.000
	Intra-grupos	6.500	20	.325		
	Total	26.958	23			
24 horas	Inter-grupos	21.792	3	7.264	28.118	.000
	Intra-grupos	5.167	20	.258		
	Total	26.958	23			
Promedio eficiencia	Inter-grupos	9.900	3	3.300	40.244	.000
	Intra-grupos	1.640	20	.082		
	Total	11.540	23			

En la tabla 6 se observa que en los grupos de tratamiento en los diferentes tiempos las diferencias son significantes ($p < 0.05$), sólo en la medida basal (0 horas) la diferencia no es significativa ($p > 0.05$)

Tabla 7. Análisis de Tukey para la media de la eficiencia antiinflamatoria durante las 24 horas de observación

	Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey	Gel diclofenaco 2%	6	2.833			
	Gel aceite naranja 2%	6		3.300		
	Gel aceite naranja 1%	6			3.933	
	SSF 5 mL/Kg	6				4.533
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

N = Número de ratas por grupo de tratamiento Sig = Significancia

SSF = Solución salina fisiológica

En la tabla 7 se aprecia que en todos los grupos no hay efectos idénticos, es decir que si existen diferencias significativas según los diferentes grupos de tratamiento.

Así mismo en la tabla 8 se observa que según el análisis de Dunnett las diferencias entre los grupos de tratamiento son significantes, indica también que los promedios son diferentes, se evidencian porque los valores de intervalo de confianza son del mismo signo.

Tabla 8. Análisis Dunnett según tiempo y grupos de tratamiento

Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
0 horas	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	1.000	-.757	.757
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	1.000	-.757	.757
	Gel aceite naranja 2%	Gel diclofenaco 2%	.554	-1.091	.424
2 horas	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	.009	.322	2.344
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	.022	.156	2.178
4 horas	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	.000	1.331	3.003
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	.006	.331	2.003
6 horas	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	.000	1.664	3.336
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	.002	.497	2.169
24 horas	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	.000	1.755	3.245
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	.000	1.088	2.579
	Gel aceite naranja 2%	Gel diclofenaco 2%	.027	.088	1.579
Promedio eficiencia	SSF 5 mL/Kg	Gel diclofenaco 2%	.000	1.280	2.120
	Gel aceite naranja 1%	Gel diclofenaco 2%	.000	.680	1.520
	Gel aceite naranja 2%	Gel diclofenaco 2%	.028	.047	.887

4.2. Discusión

Según Bruce O. et al, las técnicas iniciales para investigar acciones biológicas de nuevos compuestos químicos deberán ser sencillas, de corta duración, realizables con un reducido gasto y que no precisen instrumental costoso; de elección son los roedores habituales en experimentación animal: rata y ratón; los modelos *in vivo* son valiosos bioensayos, complejos y completos, para el estudio de nuevas estrategias terapéuticas entre los que cabe destacar los modelos de inflamación aguda y crónica⁽³¹⁾, en el presente trabajo se usaron ratas como material biológico y se usó la carragenina[®] como agente químico inductor de inflamación. Según Morikawa, estudió el efecto antiinflamatorio de la quercitina, que es un polifenol, en un modelo de inflamación con carragenina, demostraron que disminuye los niveles de TNF α , PGE2 y RNAm para COX-2, concluye que este polifenol tienen efecto antiinflamatorio similar a las antocianinas⁽³²⁾. Es probable que este mecanismo se relacione con nuestro estudio, en el cual se halló la presencia de flavonoides en el aceite de cáscara de naranja que podría estar contribuyendo con el efecto antiinflamatorio evidenciado en el experimento. En estudios previos los flavonoides han mostrado tener efecto

antiinflamatorio por disminución de los niveles de proteínas totales y de interleucinas ⁽³³⁾, así también como inhibir enzimas como la ciclooxigenasa, y depurar radicales libres como los peróxidos y superóxidos ⁽³⁴⁾. El efecto antiinflamatorio aumentó conforme pasó el tiempo, en nuestro experimento el efecto fue mayor a las 24 horas. Por otro lado la carragenina[®] estimula la liberación de citoquinas, serotoninas, proteasas, bradiquinas, prostaglandinas ⁽³⁵⁾, son sustancias que participan en procesos de la inflamación, el cual se manifiesta con formación de edema en el lugar de la aplicación, en nuestro caso en la pata de la rata. En nuestro estudio no se realizó ensayos para valorar el mecanismo de acción, el cual constituye una limitación, por lo que es recomendable continuar con los experimentos respectivos para conocer el mecanismos mediante el cual el aceite de cáscara de naranja en forma de gel ejercen propiedades antiinflamatorias.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) tiene actividad antiinflamatoria en ratas inducidas a inflamación con carragenina
2. El rendimiento de extracción del aceite esencial de la cáscara de *Citrus sinensis* (naranja) por arrastre de vapor de agua fue de 1.2%
3. Los componentes fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) fueron triterpenos, flavonoides y limoneno
4. La eficacia antiinflamatoria del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) en ratas inducidas a inflamación con carragenina fue de 13% y 27% con gel 1% y 2% respectivamente

5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad dérmica de gel a base de aceite de *Citrus sinensis* (naranja)
2. Realizar estudios en modelos de inflamación crónico del aceite esencial de *Citrus sinensis*
3. Realizar estudios para valorar el mecanismo de acción farmacológico del aceite esencial de *Citrus sinensis*

Referencias bibliográficas

1. Adams R. Identification of essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. USA: Allured Publishing Corporation; 2015.
2. Mosquera A, Echegaray J, Echegaray P. Fitoterapia y sus aplicaciones. Revista Española de Podología, 2011; 22(6): 258-267
3. Naik E, Dixit V. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. J Exp Med. 2011; 208(3): 417- 20.
4. Llontop S, et al. Extracción y caracterización del aceite esencial y pectina de naranja (*Citrus sinensis*) obtenidos de los desechos recolectados en las juguerías del mercado modelo del distrito de Lambayeque. Lambayeque. 2015.
5. Reátegui L. Hidro extracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara de naranja Cajamarca. 2014
6. Juárez J, Castro J, Carhuapoma M, et al. Composición química, actividad antibacteriana del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. (naranja dulce) y formulación de una forma farmacéutica. Arequipa. 2016
7. Duchén E. Obtención experimental de aceite esencial y subproducto a partir de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*).Bolivia. 2011.
8. Yáñez R. et al. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca. Colombia. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 2017
9. Germán M. et al. Diseño y evaluación in vivo de formulaciones para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum* L) y ácido acético. Bogotá. Revista Biomédica.2012.
10. Ortega M, López A, Requejo M, Andrés P. La composición de los alimentos. Herramienta básica para la valoración nutricional, Frutas, verduras y salud, Madrid. 2004
11. Pasto D, Johnson C. Determinación de estructuras orgánicas. España Editorial Reverte. 2015
12. Sánchez M. Procesos de elaboración de alimentos y bebidas. Bretaña. Mundi Prensa Libros. 2014

13. Nicolosi E, et al. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. Madrid. *TAG Theoretical and Applied Genetics*. 2010
14. Badu J, et al. Principales aceites esenciales de la cascara de naranja. Edit. Marlos. 2017
15. David H. Balance de Material y Energia. Edit Lectora. Francia. 2016
16. Miller S, Pritts T. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. *J. of Surg. Res.* 2014.
17. Díaz J. Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto Alexander Von Humboldt - Biocomercio Sostenible. Bogotá. 2017.
18. Gergensen M, León S. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador: Missouri Botanical Garden Press. 2015
19. Grosse R, et al. Extracción del Aceite Esencial de Naranja Cajera citrus. *Acta Científica Venezolana*. 2015; 51(2): 200-208
20. Lopez B, et al. Aceites esenciales de limoneno. *Barcelona J. Essent. Oil Res.* 2015; 17(1): 1-7
21. Sánchez R, Pino J, Chang L, Roncal E, Rogert E. Desterpenación de aceite esencial de naranja por extracción con etanol diluido. *Brasil. Alimentaria*. 2017; 249(1): 59-61
22. Yáñez X. Aceite esencial foliar de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth) Mc Vaugh, obtenido por hidrodestilación asistida por microondas. *Colombia*. 2016: 24-30
23. Weiss E. *Essential Oil Crops*. Cab International. New York. 2014: 417-511
24. Cadwallader R, et al. Bioconversion of α - and β - pinene by *Pseudomonas* sp. Strain PIN. España. *Process Biochemistry*. 2015.
25. Durts. *Manual de extracción de aceites esenciales*. Brasil edit Mayarí. 1999
26. Del Bosque F. *Química Inorgánica*. México: Mc Graw Hill. 2008
27. Pomilio et al. Método de decantación para proceso de obtención de aceites. Portugal. Edit Cris. 2016
28. Li et al. Los frutos con más porcentaje de vitamina C. Brasil. edit. anayarin. 2015
29. Taylor M, Dawson J. *Lo esencial en farmacología. Cursos Crash de Mosby*. España; Editorial Elsevier. 2017.

30. Kuklinski C. Licenciada en Ciencias Químicas y Farmacia. Italia. Barcelona. Ediciones Omega "Farmacognosia". 2017: 134-141
31. Quiroz A. Edemetización de animales de laboratorio usados en la obra. Edit. Anyalin Inj. Chile. 2016
32. Morikawa C. Estudio antiinflamatorio de la quercetina. Medicinal botánica 2007.
33. Arroyo J, Enciso E. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungla rugosa Less* (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. An Fac Med. 2011; 72(4)
34. Cuevas E, Escamilla C, Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 2009; 52(2)
35. Carbajal D, Nolina V, Ravelo Y, Pérez Y, Oyarzabal A, Mas R. Efectos del policosanol en los modelos de pleurosia inducida por carragenina y granuloma por algodón. Revista Cubana de Farmacia. 2013; 47(4): 492-501

ANEXOS

Anexo 1: Testimonios Fotográficos



Foto 1. Recolección de la cáscara de naranja en puestos de venta de jugo de naranja



Foto 2. Selección y secado de la cascara de Citrus sinensis (naranja)



Foto 3. Miembros del grupo de investigación



Foto 4. Proceso de destilación del aceite esencial de la cascara de *Citrus sinensis* (naranja)



Foto 5. Obtención del aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja)



Foto 6. Elaboración del gel a base del aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja)



Foto 7. Ratas albinas cepa Holtzman

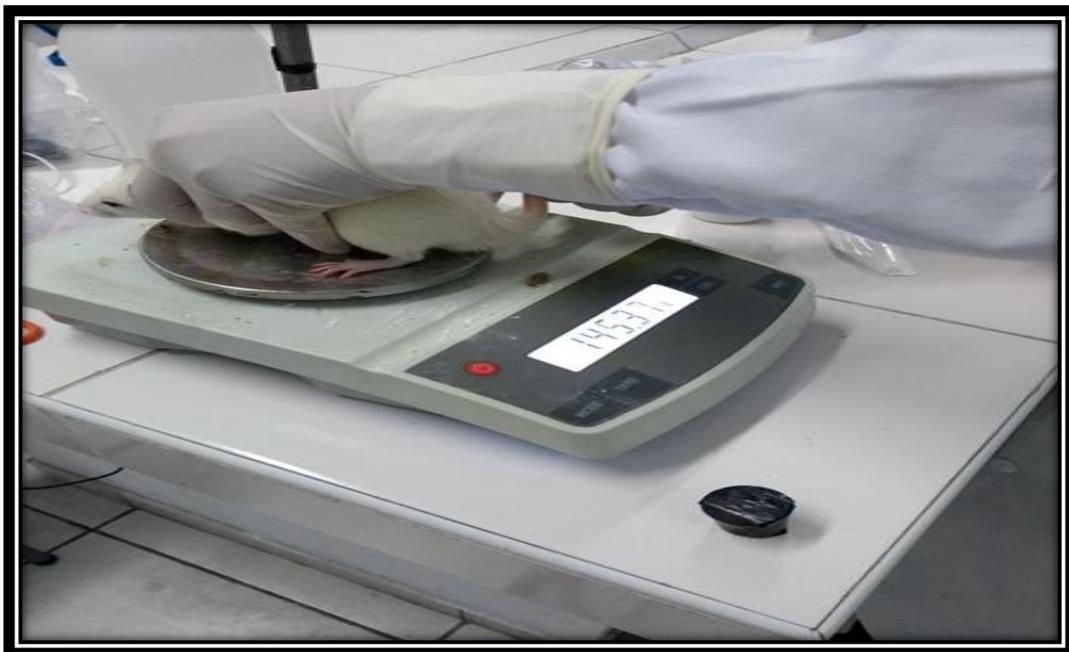


Foto 8. Obtención de peso de ratas en proceso experimental



Foto 9. Inducción a la inflamacion con carragenina



Foto 10. Aplicación del gel a base de aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja)



Foto 11. Proceso de medición de la inflamación en pata de la rata