

# UNIVERSIDAD INCA GACILASO DE LA VEGA

“Año del Diálogo y Reconciliación Nacional”



## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

### ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Cestrum auriculatum* Heritier “HIERBA SANTA” EN RATONES ALBINOS

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y  
Bioquímico

TESISTA:

Miguel Angel Rodas Salazar

ASESOR:

Dr. Nesquen José Tasayco Yataco

LIMA – PERÚ

2018

## DEDICATORIA

Doy gracias a Dios por guiarme por el camino de la verdad y la justicia. De su mano, he llegado a contemplar con sencillez este éxito de formación profesional y personal.

Junto a mi familia, mis padres María S. y Segundo R. y mis hermanos Isabel R. Emilio R. por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, acompañándome para poderme realizar.

Se unen también mis Abuelitos, Justiniano S. y Isabel D. y Emilio R. y Luz del Carmen C. y la alegría de mis tíos y tías que me cautivaron con valores que me incentivaron cada día a esforzarme con esmero y dedicación.

A los engreídos de la casa, Chiki S. y Pona S. y Rafita R. y Luchito y Tigresa. Por su amor incondicional.

Al cuerpo de docentes que, desde el inicio de mi vida académica, estuvieron instruyéndome con paciencia y entusiasmo en el proceso de aprendizaje, destacar a Dra. Lily García Vásquez y Dra. QF. Dors Yupanqui Siccha.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”. **Thomas Chalmers**

## AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecer a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la **UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA** por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi asesor de tesis Dr. Nesquen José Tasayco Yataco, por ayudarme en la investigación a clarificar mi esquema y la metodología utilizada.

También, me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera universitaria, porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación profesional, humanista y científica.

De igual manera, agradecer a los encargados de los laboratorios, personal administrativo y de mantenimiento por su apoyo incondicional.

Pero un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón. Sin importar en donde estén, quiero darles las gracias por formar parte de mí por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

# ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice general	
Índice tablas	
Índice de figuras	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>3</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Formulación del problema	4
1.2.1. Problema general	4
1.2.2. Problemas específicos	4
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Justificación e importancia del estudio	5
1.5. Limitaciones de la investigación	6

<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
2.1. Antecedentes del estudio	7
2.1.1. Nacionales	7
2.1.2. Extranjeros	8
2.2. Bases teóricas	10
2.2.1. El dolor	10
2.2.2. Naturaleza del dolor	11
2.2.3. Clasificación del dolor	12
2.2.4. Opioides, mecanismo intracelular	13
2.2.5. Fármacos Antiinflamatorios no esteroideos	15
2.2.6. Fármacos corticosteroides	17
2.2.7. <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier (Hierba Santa)	17
2.2.8. Constituyentes químicos de las plantas	19
2.2.9. Identificación de componentes químicos en extractos de plantas	24
2.3. Formulación de la hipótesis	25
2.3.1. Hipótesis general	25
2.3.2. Hipótesis específicas	25
2.4. Operacionalización de variables e indicadores	25
2.5. Definición de términos básicos	26

<b>CAPÍTULO III: MÉTODO</b>	28
3.1. Tipo de estudio	28
3.2. Diseño del estudio	28
3.3. Población y muestra de la investigación	32
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	33
3.5. Procesamiento de datos	33
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	34
4.1. Presentación de resultados	34
4.1.1. Prueba de solubilidad	34
4.1.2. Principales grupos de componentes químicos	35
4.1.3. Ensayo de efecto analgésico	37
4.2. Contrastación de hipótesis	41
4.3. Discusión de resultados	44
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	47
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	48
<b>ANEXOS</b>	54
Anexo 1: Matriz de consistencia	54
Anexo 2: Análisis ANOVA de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “hierba santa” en ratones	56
Anexo 3: Análisis de comparaciones múltiples post hoc prueba de tukey actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “hierba santa” en ratones	57
Anexo 4: Testimonios fotográficos	58

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tipos de fibra y velocidad de conducción del dolor	10
Tabla 2. Fármacos y subtipos de receptores opioides	14
Tabla 3. AINE clasificación según estructura química	16
Tabla 4. Identificación de principales grupos de componentes químicos en extractos de plantas	24
Tabla 5. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”	34
Tabla 6. Determinación de los principales grupos de componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”	35
Tabla 7. Promedio y porcentaje de inhibición del número de contorciones abdominales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” en ratones	37
Tabla 8. Prueba de ANOVA del número de contorciones abdominales en los siete grupos experimentales	38
Tabla 9. Prueba Post hoc de HDS Tukey de las contorciones abdominales en los grupos de tratamiento	38
Tabla 10. Prueba Post hoc de T de Dunnett de las contorciones abdominales en los grupos de tratamiento	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Proceso neurofisiológico del dolor	12
Figura 2. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos	16
Figura 3. Ruta de biosíntesis de flavonoides y su relación con otros componentes	21
Figura 4. Flavonoides y sub familias, estructura química básica	22
Figura 5. Lugares posibles de interacción de los flavonoides en el cáncer	23
Figura 6. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> <i>Heritier</i> "Hierba Santa"	36
Figura 7. Promedio del número de contorciones abdominales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> <i>Heritier</i> "Hierba Santa" en ratones	39
Figura 8. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> <i>Heritier</i> "Hierba Santa" sobre las contorciones abdominales en ratones	40



## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tienen efecto analgésico en ratones con inducción a contorciones abdominales. Se empleó una metodología experimental, prospectiva y transversal. Para inducir contorciones abdominales se usó ácido acético 0,8% a dosis 0.1 mL/10 g de peso corporal del ratón vía intraperitoneal. Se formaron 7 grupos experimentales; G1: Solución salina fisiológica 5 mL/Kg, G2: ácido acético 0,8% (AA), G3: Tramadol 40 mg/Kg + AA, G4: Paracetamol 300 mg/Kg + AA, G5: Extracto 50 mg/Kg + AA, G6: Extracto 100 mg/Kg + AA, G7: Extracto 200 mg/Kg + AA, vía oral. Los resultados muestran que el extracto mostró ser muy soluble en agua y etanol, y poco soluble en metanol y cloroformo. Los principales grupos de componentes químicos encontrados en el extracto fueron flavonoides, alcaloides y taninos. La dosis del extracto 200 mg/Kg obtuvo mayor porcentaje de inhibición (70%), seguido de la dosis 100 mg/Kg (42%) y 50 mg/Kg (36%); es decir el efecto fue a dosis dependiente y es significativo ( $p < 0,05$ ) comparado con el grupo control. El mayor efecto analgésico del extracto fue inferior al obtenido por el tramadol (88%) y superior al grupo del paracetamol (50%). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico con un porcentaje de inhibición máximo de 70% con la dosis de 200 mg/Kg en ratones inducidos a contorciones abdominales.

**Palabras clave:** Hierba santa, efecto, analgésico, ratas.

## ABSTRACT

The objective of the study was to determine if the hydroalcoholic extract of the leaves of *Cestrum auriculatum* Heritier "Holy Grass" have analgesic effect in mice with induction to abdominal contortions. An experimental, prospective and longitudinal methodology was used. To induce abdominal contours, 0.8% acetic acid was used at a dose of 0.1 mL / 10 g of mouse body weight intraperitoneally. Seven experimental groups were formed; G1: Physiological saline solution 5 mL / Kg, G2: 0.8% acetic acid (AA), G3: Tramadol 40 mg / Kg + AA, G4: Paracetamol 300 mg / Kg + AA, G5: Extract 50 mg / Kg + AA, G6: Extract 100 mg / Kg + AA, G7: Extract 200 mg / Kg + AA orally. Results, the extract showed to be very soluble in water and ethanol and poorly soluble in methanol and chloroform, the main groups of chemical components found in the extract were; flavonoids, alkaloids and tannins. The dose of the extract 200 mg / Kg obtained a higher percentage of inhibition (70%), followed by the dose 100 mg / Kg (42%) and 50 mg / Kg (36%), that is, the effect was dose-dependent and is significant ( $p < 0.05$ ) compared to the control group. The highest analgesic effect of the extract was lower than that obtained by tramadol (88%) and superior to the paracetamol group (50%). It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Cestrum auriculatum* Heritier "Holy Grass" has analgesic effect with a maximum inhibition percentage of 70% with the dose of 200 mg / Kg in mice induced to abdominal contortions.

Key words: Holy herb, effect, analgesic, rats.

## INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional complementaria o también denominada medicina no convencional representa para millones de personas en el mundo, la principal fuente en la atención primaria de la salud, en algunos casos, la única, ya que es accesible a muchos hogares y culturalmente aceptado por la población como medio para afrontar problemas de salud agudos o crónicos. En tal sentido el interés por la medicina tradicional está en aumento en todo el mundo<sup>1</sup>.

La Organización Mundial de la Salud brinda apoyo a la medicina tradicional cuando en el paciente ha demostrado utilidad y los riesgos son mínimos, por tanto, es fundamental la información adecuada y oportuna para orientar a los usuarios el uso adecuado de la medicina tradicional complementaria<sup>2</sup>.

Uno de los principales problemas de salud en la población es el dolor, el cual constituye una de las causas de mayor frecuencia de visita al profesional sanitario. El dolor se define como “una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial”<sup>3</sup>.

El síntoma con mayor frecuencia en pacientes que requieren cuidados paliativos es el dolor, en pacientes con cáncer o sida al menos el 80% experimentan dolor, el 67% de los pacientes con enfermedades pulmonares o cardiovasculares sufren de dolor y son los fármacos opiáceos muy útiles para aliviar el dolor<sup>4</sup>.

La fitomedicina definido como “aplicación de principios químicos de origen vegetal en terapéutica basado en el conocimiento científico moderno”<sup>5</sup>. constituye una tendencia importante en el tratamiento de diversas enfermedades. Para demostrar los efectos biológicos de plantas medicinales, se realizan diversos estudios preclínicos *in vivo*, *in vitro* e *in situ*, así como estudios clínicos siendo los resultados de mucha utilidad en la población para fomentar el uso seguro y efectivo de las plantas medicinales.

En la presente investigación, el estudio se dividió en cinco capítulos. En el capítulo I, se plantea la descripción de la realidad problemática, formulación del problema,

los objetivos de la investigación, la justificación y las limitaciones de la investigación. En el capítulo II, se tomó en cuenta los antecedentes del estudio, bases teóricas de la investigación, se formularon las hipótesis, variables y términos básicos. En el capítulo III, se habló de la metodología de la investigación, el diseño de estudio, la población y las técnicas estadísticas para la realización de esta investigación. En el capítulo IV, se presentó y se analizó los resultados, así como la discusión de estos. En el capítulo V, se mencionó las conclusiones a las cuales se ha llegado en la investigación y se darán algunas recomendaciones. Finalmente, se mencionó la bibliografía. Matriz de consistencia y los anexos usados en el desarrollo de la presente investigación.

# CAPITULO I

## EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

En la actualidad, la medicina tradicional y el uso de plantas medicinales son de uso frecuente en la población tanto en países desarrollados como en países subdesarrollados, en los últimos años está en aumento el interés de las terapias alternativas con gran aceptación de medicamentos elaborados con extractos de plantas medicinales<sup>6</sup>.

En el Perú, existen diferentes especies vegetales, en especial en nuestra Amazonía, con propiedades terapéuticas que son usados por los pobladores en forma empírica para el tratamiento de diferentes dolencias; muchos de estas plantas medicinales merecen nuestra atención para aumentar el conocimiento y proponer el uso seguro en sus efectos farmacológicos; sin embargo, en nuestro estudio, se analiza las propiedades analgésicas de la hierba santa, planta de uso común en las diferentes regiones de nuestro país para controlar problemas de salud como; fiebre, alergias, lavado de heridas, calmar cólicos entre otros como para tratar el susto<sup>7</sup>.

El dolor es considerado un problema de salud pública ya que repercute en actividades de las personas que la padecen, puede estar presente muchos años en la persona causando disminución en la productividad, ausentismo y/o incapacidad laboral, estrés, depresión entre otros<sup>8</sup>.

Se identifican de forma general dos tipos de dolor, uno el dolor nociceptivo derivado por procesos inflamatorios o lesiones tisulares, y el dolor neuropático por destrucción nerviosa ocasionado por diversas enfermedades como por ejemplo la diabetes mellitus. Reportes indican que entre el 1% y 10 % de la población padece de dolor crónico intenso y persiste con discapacidad y muchas dificultades terapéuticas, ocasionando

grandes gastos en el sistema sanitario, y constituye uno de los problemas para la automedicación siendo los antiinflamatorios no esteroideos los más empleados<sup>9</sup>.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto analgésico en ratones albinos?

### **1.2.2. Problemas específicos**

1. ¿Cuáles serán los tipos de componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto analgésico en ratones albinos?
2. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tendrá una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos?
3. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que porcentaje de inhibición analgésica tendrá para que genere efecto analgésico en ratones albinos?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico en ratones albinos

### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Determinar si los componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” presenta efecto analgésico en ratones albinos

2. Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tendrá una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos
3. Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que porcentaje de inhibición analgésica tendrá para que genere efecto analgésico en ratones albinos

#### **1.4. Justificación e importancia del estudio**

Los opiáceos y los antiinflamatorios no esteroideos constituyen los principales grupos de fármacos usados para el tratamiento del dolor asociado a diversas enfermedades, tales como el cáncer, el sida, la diabetes mellitus, dolor posquirúrgico, entre otros. Se ha observado que, en el mundo, al menos 47 millones de personas con diabetes mellitus sufre de dolor neuropático periférico; de al menos 33 millones de personas en el mundo infectado con VIH, el 35% experimenta dolor<sup>10</sup>.

Con el presente estudio, se pretende contribuir con el conocimiento sobre la actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en el tratamiento del dolor y de esta manera a proporcionar una alternativa de tratamiento a los esquemas actuales, ya que se suele emplear los antiinflamatorios no esteroideos, corticoides, opioides, otros como anticonvulsivantes, antidepresivos y ansiolíticos, las cuales tienen reconocidos efectos adversos.

Se pretende proporcionar evidencias sobre los constituyentes químicos presentes en el extracto, así como establecer dosis adecuadas para su uso como analgésico.

Serán beneficiados con los resultados del presente proyecto la población en general y en especial los que padecen de algún tipo de dolor, ya que ofrecemos una nueva alternativa en la medicina tradicional.

También los productores y comercializadores de la hierba santa se benefician con el estudio porque al demostrar su efectividad se generará más demanda de compra.

## **1.5. Limitaciones de la investigación**

**1.5.1. Limitación Interna:** La presente investigación limita sus resultados en la medida que los datos obtenidos son válidos solo para la muestra en estudio; por ello, no se puede extender a otras muestras similares sin el control de las variables en estudio.

**1.5.2. Limitación externa:** Esta se dio básicamente en la disponibilidad presupuestaria y la obtención de recursos económicos para la ejecución del programa experimental y otros recursos materiales, disponibilidad de tiempo para recolección de datos y búsqueda de información.



## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes del estudio

##### 2.1.1. Nacionales

**Robles V, et al. (2014)** realizaron el estudio “Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. “chuchuhuasi” mediante la prueba de contorsiones abdominales en ratones”. Para el estudio, usaron 40 ratones machos albinos, usaron 2000 mg/Kg de peso del extracto etanólico, como fármaco de referencia al tramadol 10 mg/Kg y diclofenaco sódico 10 mg/Kg administrados por vía oral 1 hora antes de inducir contorsiones abdominales con el ácido acético. Hallaron que el extracto en estudio presentó efecto antinociceptivo en ratones y fue estadísticamente significativo comparado con los grupos controles<sup>11</sup>.

**Betancourt J, et al. (2006)** realizaron el estudio “Actividad analgésica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Bixa orellana* L. en ratones albinos”. Para el estudio, emplearon el método de contorsiones abdominales y de Hot-Plate, usaron como material biológico ratones albinos machos, los fármacos de referencia fueron paracetamol 400 mg/Kg e indometacina 10 mg/Kg y dosis del extracto 100 mg/kg y 150 mg/Kg. Demostraron que la *Bixa Orellana* tiene actividad analgésica en ratones en proporción directa con la dosis en los modelos de estudio<sup>12</sup>.

**Rivas E, et al. (2005)** realizaron la investigación “Estudio de la actividad analgésica de extractos metanólicos de *Maytenus krukovit* (chuchuhuasi), *Alchornea castaneifolia* (hipotuto), *Sambucus nigra* (Saúco) y *Aristeguieta discolor* (pulmonaria) en ratones frente al ibuprofeno. Evaluaron la actividad analgésica en ratones, usaron el

ácido acético como agente inductor del dolor, emplearon dosis de 1000 mg/Kg de chuchuhuasi, 250 mg/Kg de hipoturo, 250 mg/Kg de saúco y 750 mg/Kg de pulmonaria. Hallaron que el efecto analgésico de pulmonaria y chuchuhuasi son comparables con el ibuprofeno y en todos los extractos el periodo de latencia aumentó comparado con el grupo control<sup>13</sup>.

### 2.1.2. Extranjeros

**Sánchez N, et al. (2012)** realizaron el estudio “Efecto del zumo de *Morinda citrifolia* L. (noni) en modelos de analgesia”. Como material biológico, usaron ratones y para inducir dolor ácido acético 0,6 %, y como indicador observaron el número de contorsiones o estiramiento. Usaron diferentes dosis de zumo de noni 450 mg/Kg, 800 mg/Kg y 1800 mg/Kg. Hallaron que el efecto analgésico en dosis dependiente en reducción del número de contorsiones estadísticamente significativa comparado con el grupo control<sup>14</sup>.

**Marrassini C, et al. (2010)** realizaron el estudio “Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina”. Para el estudio usaron ratones hembras y ácido acético 1,0 % dosis 0,1 mL/10 g; formalina 2,5 % a dosis de 20uL como agente inductor de dolor, como droga de referencia usaron la indometacina 10 mg/Kg i.p. y morfina 10 mg/Kg. Hallaron que las especies *U. urens* y *U. circularis* tienen actividad analgésica en los modelos experimentales empleados<sup>15</sup>.

**Miño J, et al. (2002)** realizaron el estudio “Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. (Ceibo)”. Para evaluar la actividad analgésica, usaron ratones; para inducir dolor, ácido acético y formalina; para el tratamiento con el extracto, emplearon diferentes dosis 250 mg/Kg, 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg vía oral, Para evaluar el

efecto antiinflamatorio, usaron el método del edema de la pata inducida con carragenina y test de edema de oreja en ratones (1 mg/oreja). Hallaron que el extracto de Ceibo presenta actividad analgésica y antiinflamatorio<sup>16</sup>.

**García G, et al. (2011)** realizaron la investigación “Estudios preliminares sobre el efecto analgésico del extracto de hojas de *Ageratina glabrata* en dos modelos térmicos de dolor agudo”. El estudio fue de tipo experimental, emplearon ratas y para evaluar el efecto analgésico emplearon la prueba de “plato caliente” y la “retirada de la cola”. En la primera prueba, emplearon dosis de 100 y 150 mg/Kg y en la segunda prueba, dosis de 100 mg/Kg. Hallaron que la sustancia de prueba tiene efecto analgésico luego de 5 horas de administración en el ensayo de plato caliente<sup>17</sup>.

**Morón F, et al. (2008)** realizaron el estudio “Tamizaje fitoquímico, actividad analgésica y antiinflamatoria de decocción de *Costus pictus* D. Don”. El estudio fue tipo experimental. Para evaluar el efecto biológico, realizaron el método de granuloma inducido por algodón y dolor provocado por ácido acético 0,75% (0,1 mL/10 g i.p.) y retirada de cola en agua caliente a 55 °C en ratones. La dosis ensayada de la sustancia de prueba fue de 0,5, 1 y 5 g/Kg. Hallaron, en el extracto, presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos lactónicos, saponinas, cumarinas y azúcares reductores, no hallaron efecto antiinflamatorio, pero si efecto analgésico<sup>18</sup>.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. El dolor

El dolor es una sensación no placentera asociada con una parte específica del cuerpo. Es producido por procesos que dañan o son capaces de dañar los tejidos. Es un signo de enfermedad y es motivo de consulta con mayor frecuencia al médico. La función del sistema de percepción es proteger al cuerpo y conservar la homeostasis; realiza esa función al detectar, localizar e identificar elementos nocivos para los tejidos<sup>19</sup>.

El estímulo doloroso se propaga por las fibras nerviosas, la velocidad de propagación depende del diámetro de la fibra como la cantidad de mielina que posee. La fibra C carece de mielina y tiene diámetro entre 0,5 y 1 micra, su velocidad de conducción es lenta (20 cm a 2 m/seg). Las fibras A $\delta$  tienen mayor velocidad de conducción (4 – 30 m/seg), debido a que posee mayor diámetro (1 – 5 micras) y posee capa delgada de mielina. Estos datos permiten entender que ante un estímulo como un pinchazo sentimos al inicio dolor agudo, rápido, intenso, seguido por dolor quemante, lento, difuso y de mayor duración<sup>20</sup>.

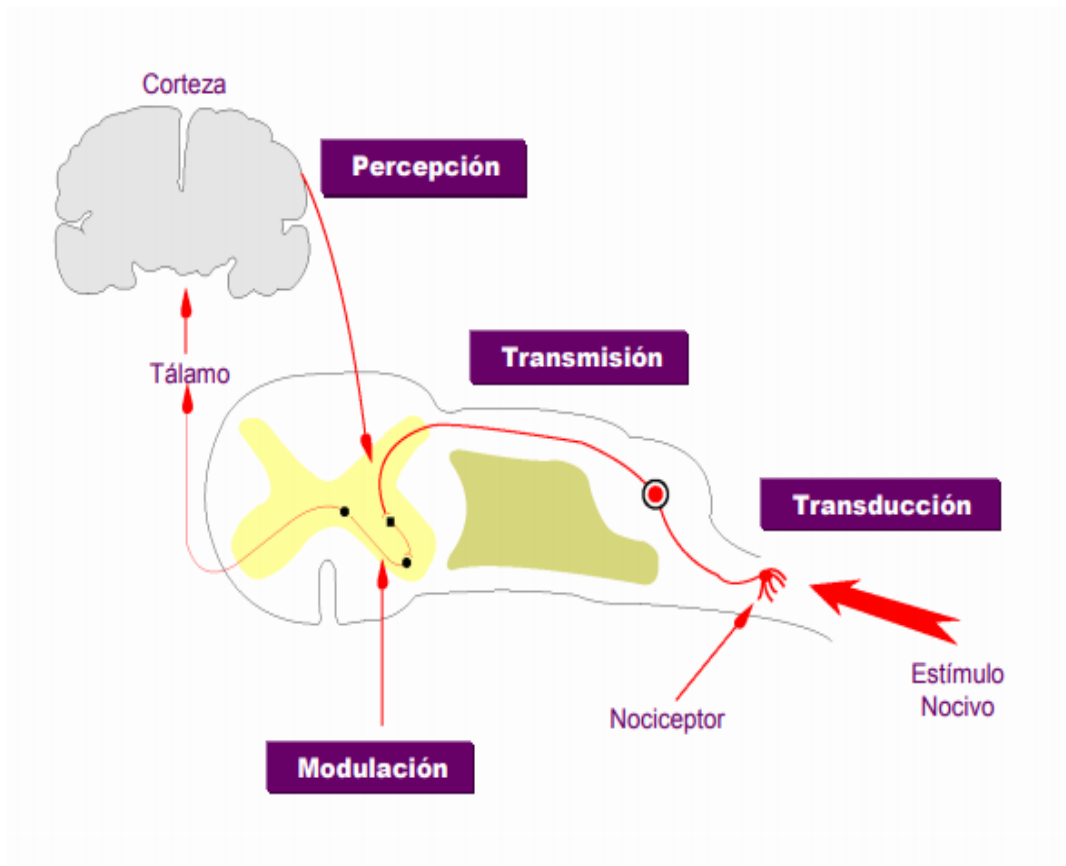
**Tabla 1.** Tipos de fibra y velocidad de conducción del dolor

Tipo de fibra	Inervación	Diámetro $\mu\text{m}$	Velocidad de Conducción m/seg
A $\alpha$	Motor músculo esquelético.	12-20	70-120
A $\beta$	Tacto-presión	8-15	30-70
A $\gamma$	Huso neuromuscular	6-8	15-30
A $\delta$	Nociceptores	1-4	12-30
B	Preganglionar simpático	1-3	3-15
C	Nociceptores, postganglionar simpático	0,5-1,5	0,5-2

Fuente: Zapata J. Mecanismos y vías del dolor<sup>20</sup>.

### 2.2.2. Naturaleza del dolor

Se denominan “noxas” a los estímulos causantes del dolor y son detectados por receptores sensoriales específicos llamados “nociceptores”. Estos son identificados como fibras C y fibras A  $\delta$ ; responden selectivamente a estímulos. Dichos nociceptores son terminaciones nerviosas libres con cuerpos celulares en los ganglios, de las raíces dorsales con terminación en la asta dorsal de la medula espinal. Los nociceptores se encuentran en todo el cuerpo, pero están más extensamente localizados en el periostio, la pared arterial, los dientes, en la superficie articular y la bóveda craneana<sup>21</sup>. El daño tisular causa la liberación de numerosos agentes químicos: leucotrienos, bradiquininas, serotonina, histamina, iones potasio, ácidos, acetilcolina, tromboxanos, sustancia P y factor activante de plaquetas. Estos agentes son importantes factores en el desarrollo de dolor continuo después de una injuria aguda. Las prostaglandinas son mediadores locales o cofactores que aumentan la sensibilidad de las terminaciones nerviosas libres. En la medula espinal, los nociceptores liberan mensajes a través de la liberación de neurotransmisores del dolor: glutamato, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (PRGC)<sup>5-7</sup>. Los neurotransmisores del dolor activan la neurona de segundo orden, vía los receptores correspondientes. Esta neurona cruza la medula espinal al lado contralateral, y viaja por el haz espinotalámico hasta alcanzar el tálamo. En el tálamo, se activa la neurona de tercer orden, y viaja a la corteza somatosensorial, la cual percibe el dolor<sup>22</sup>.



**Figura 1.** Proceso neurofisiológico del dolor

Fuente: Arbaiza D. Neurofisiología del dolor<sup>23</sup>.

### 2.2.3. Clasificación del dolor

El dolor puede clasificarse como agudo o crónico. El primero es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptores por una noxa. Aparece por estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos; tiene una función de protección biológica. Los síntomas psicológicos son escasos. El segundo no posee una función de protección, es persistente y puede perpetuarse por tiempo prolongado después de una lesión, e incluso en ausencia de esta. Suele ser refractario al tratamiento y se asocia a importantes síntomas psicológicos.

En función de los mecanismos fisiopatológicos, el dolor se diferencia en nociceptivo o neuropático. El primero es consecuencia de una lesión somática o visceral; mientras que el segundo es el resultado de una lesión y alteración de la transmisión de la información nociceptiva a nivel del sistema nervioso central o periférico. Según la anatomía el dolor puede ser dolor somático, dolor visceral, y según su rapidez de viaje en el sistema nervioso, dolor “rápido”, dolor “lento”<sup>24</sup>.

#### **2.2.4. Opioides, mecanismo intracelular**

Se han identificado genes que codifican los tres receptores de los opioides: mu, delta, kappa. Los tres receptores pertenecen a la familia de receptores pares de la proteína G; la cual tiene tres subunidades: Alpha, beta, gamma. Los agonistas opioides dan lugar a la activación intracelular de la proteína G. La activación de los receptores opioides por un opioide resulta en una activación de la subunidad G $\alpha$ i e inhibición de la enzima adenilato ciclasa, con lo cual disminuye significativamente los niveles basales intracelulares del AMPc. Los receptores opioides localizados en los terminales presinápticos de las fibras nociceptivas C y fibras A $\delta$ , cuando son activadas por un agonista opioide, indirectamente inhibe el voltaje dependiente de los canales de calcio a través de la disminución del AMPc, bloqueando así la liberación de neurotransmisores tales como glutamato, sustancia P, lo cual resulta en analgesia. A través de los receptores opioides, la subunidad  $\beta\gamma$  de la proteína G abre los canales de potasio, lo cual resulta en una disminución de su gradiente de concentración con carga negativa intracelular. Este mecanismo da lugar a hiperpolarización, la cual disminuye la excitabilidad celular dando lugar a atenuación de la transmisión neuronal<sup>25</sup>.

**Tabla 2.** Fármacos y subtipo de receptores opioides

FÁRMACO	μ (mu)	δ (delta)	κ (kappa)
<b>Péptidos Opioides</b>			
Met-enkefalina	++	+++	
Leu-endorfina	++	+++	
B-endorfina	+++	+++	+++
Dinorfina A	++		+++
Dinorfina B	+	+	+++
α neoendorfina	+	+	
<b>Agonistas</b>			
Etorfina	+++	+++	+++
Fentanil	+++		
Levorfanol	+++		
Morfina	+++		+
Butorfanol	P		+++
Sufentanil	+++	+	+
Bremazocine	+++	++	+++
U-50,488			+++
U69,593			+++
DAMGO	+++		
Dezocina	P	++	
Sufentanilo	+++	+	+
DPDPE		++	
Metadona	+++		
<b>Agonistas-Antagonistas</b>			
Buprenorfina	P		--
Nalbufina	--		++
Pentazocina	P O --		++
<b>Antagonistas</b>			
Naloxona	---	-	--
Naltrexona	---	-	---
Diprenorfina	---	--	---
Naloxonazine	---	-	-

*+, ++, +++ potencia agonista; -, --, --- potencia antagonista; P agonista*

Fuente: Fernández E. Opioides, mecanismos de acción<sup>26</sup>.



### 2.2.5. Fármacos Antiinflamatorios no esteroideos

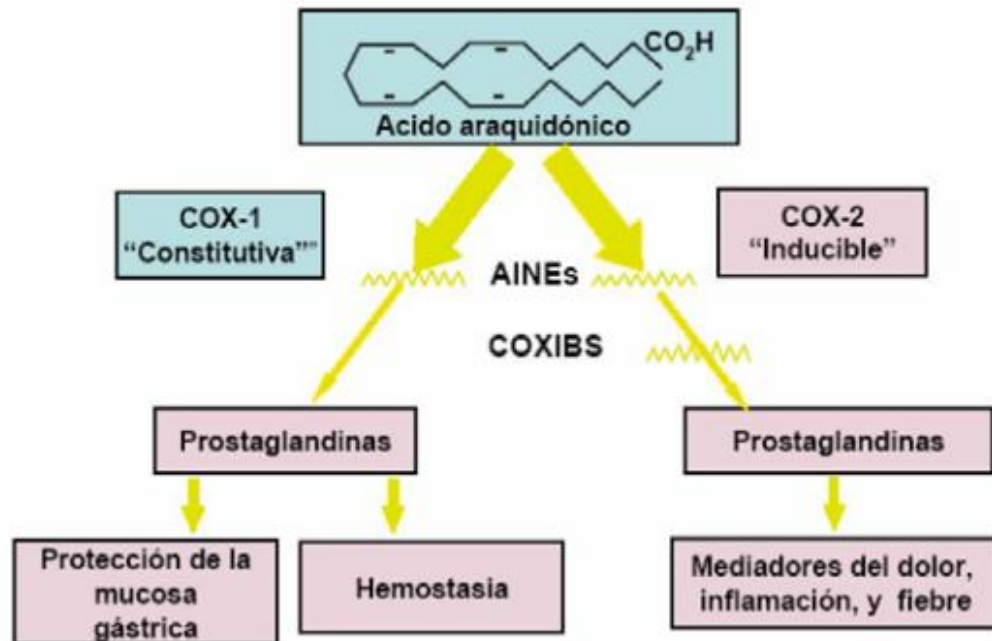
Las drogas analgésicas antipiréticas antiinflamatorias no esteroideas (AINEs) son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Los principales efectos terapéuticos de los AINEs provienen de su capacidad de inhibir la biosíntesis y liberación de prostaglandinas como mediadores de la inflamación (al inhibir con mayor o menor potencia y especificidad, las isoformas de la COX), así como la disminución inespecífica de la permeabilidad, ya que las prostaglandinas actúan como factores inmediatos de la inflamación y son las responsables del dolor, la vasodilatación, el aumento de la permeabilidad vascular y la fiebre.

La primera enzima en la vía de síntesis de las prostaglandinas (PG) es la sintasa de prostaglandina G/H, llamada también ciclooxigenasa (COX), enzima que transforma el ácido araquidónico (liberado de las membranas celulares, debido a la presencia del estímulo nocivo) en los productos inestables PGG<sub>2</sub> y PGH<sub>2</sub>, y que culmina en la producción de TXA<sub>2</sub> y diversas prostaglandinas. Se conocen dos isoformas de COX, la COX-1 que es constitutiva y la COX-2 que es inducible. Los antiinflamatorios no esteroideos, en concentraciones altas, también aminoran la producción de radicales superóxido, inducen la apoptosis, inhiben la expresión de moléculas de adherencia, disminuyen la cantidad de citocinas proinflamatorias (como TNF- $\alpha$ , IL-1); modifican la actividad de linfocitos y alteran otras funciones de la membrana celular. Sin embargo, difieren las opiniones en cuanto a que las acciones mencionadas puedan contribuir a la actividad antiinflamatoria de dicho grupo de fármacos en las concentraciones que se logran en el uso clínico<sup>27,28</sup>.

**Tabla 3.** AINE clasificación según estructuras químicas

Grupo terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
Pirazolonas	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
Arilacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Acido mefenámico, meclofenamato
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Fuente: Gómez R. Antiinflamatorios no esteroideos<sup>29</sup>.



**Figura 2.** Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos

Fuente: Muriel C. Farmacología de los analgésicos no opioides<sup>30</sup>.

## 2.2.6. Fármacos corticosteroides

Son los más potentes antiinflamatorios que actúan sobre la inflamación por diversos caminos; por ejemplo, reducen el número y la activación de eosinófilos, desencadenando la apoptosis de los mismos y disminuyendo algunos de sus factores quimiotácticos que incluyen las IL-3 y IL- 5, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, exotoxina y la citoquina<sup>35</sup>, inhiben la actividad de la fosfolipasa A2 y la expresión de la ciclooxigenasa 2, mientras que la ciclooxigenasa 1 se ve poco afectada por los corticoides. Aunque inicialmente se pensó que los glucocorticoides inhibían directamente la actividad de la fosfolipasa A2, se sabe que en realidad la inhiben de forma indirecta, al aumentar la síntesis de determinadas proteínas de la familia de la anexina, de las cuales la mejor conocida es la lipocortina<sup>27</sup>.

## 2.2.7. *Cestrum auriculatum* Heritier (Hierva Santa)

### a. Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: SOLANALES
FAMILIA	: SOLANACEAE
GENERO	: <i>Cestrum</i>
ESPECIE	: <i>Cestrum auriculatum</i> L Heritier
Nombre vulgar	: Hierba Santa

## **b. Aspectos terapéuticos**

La hierba santa es una especie vegetal muy utilizada en la medicina folklórica. Por su olor hediondo se aprovecha para tratar el susto, de sus hojas terminales o tiernas se obtiene el zumo que se emplea para bañar a los pacientes para aliviar la fiebre. Se ha utilizado para el control de la caspa, lavado de heridas, sarampión, en preparado en forma de cocimiento se emplea como sudorífero en casos de resfriados y en casos de cólicos en forma de enema. Asimismo, se ha usado para control del salpullido en los bebés, para lo cual se remojan las hojas tiernas en agua fresca y en presencia del sol, luego que el agua se ha entibiado aproximadamente después de 1 o 2 horas, se separan las hojas y con el agua se bañan a los niños<sup>2</sup>.

## **c. Descripción morfológica**

La hierba santa es una planta que suele encontrarse en todo el año y en forma silvestre y abunda en épocas de lluvia. Es un arbusto que crece hasta 2,5 m de alto, es muy ramificado, presenta follaje verde ovalado. Presenta ramas terminales de color pardo-cremoso. Sus hojas son alternas, simples, nervaduras pinnadas, enteras, hendida en el haz y prominente en el envés. Presenta inflorescencia axial en pequeño racimo simple. Sus flores son de colores amarillos y tubulares. El fruto es de tipo baya ovoide, violáceo-negruzca, dispuesta en racimos, que presenta un colorante que es la mezcla de cinco compuestos antociánicos al estado de glicósidos<sup>31</sup>.

## **d. Distribución y ecología**

La hierba santa es originaria de América tropical. En nuestro país, se encuentra entre 20-2400 msnm. Frecuenta encontrarse en lugares ribereños, mesofíticos, y muy raras veces halofíticos, en bordes de acequias, caminos, y cercos de cultivos<sup>31</sup>.

### 2.2.8. Constituyentes químicos de las plantas

Los flavonoides se encuentran en todo los vegetales superiores al estado libre y de glucósidos. Por hidrólisis, se desdoblán en materias colorantes como flavónicas y en azúcares (glicósidos pigmentarios) y constituyen la mayor parte de los colorantes amarillos de las flores, hojas y frutos. Los flavonoides o bioflavonoides son pigmentos vegetales no nitrogenados. Su función dentro del mundo de las plantas parece ser la de atraer a los polinizadores hacia las flores o los animales que comen los frutos con la intención de que puedan dispensar mejor las semillas. Muchas veces los flavonoides son la respuesta adaptativa de las plantas a la intensa radiación ultravioleta. Estos componentes protegen a las plantas de los efectos nocivos de estos rayos solares. Algunos dan color amarillo y el nombre general a principios fue Queflavus en latín significa “amarillo”. De este nombre deriva la palabra Flavonoide<sup>32</sup>.

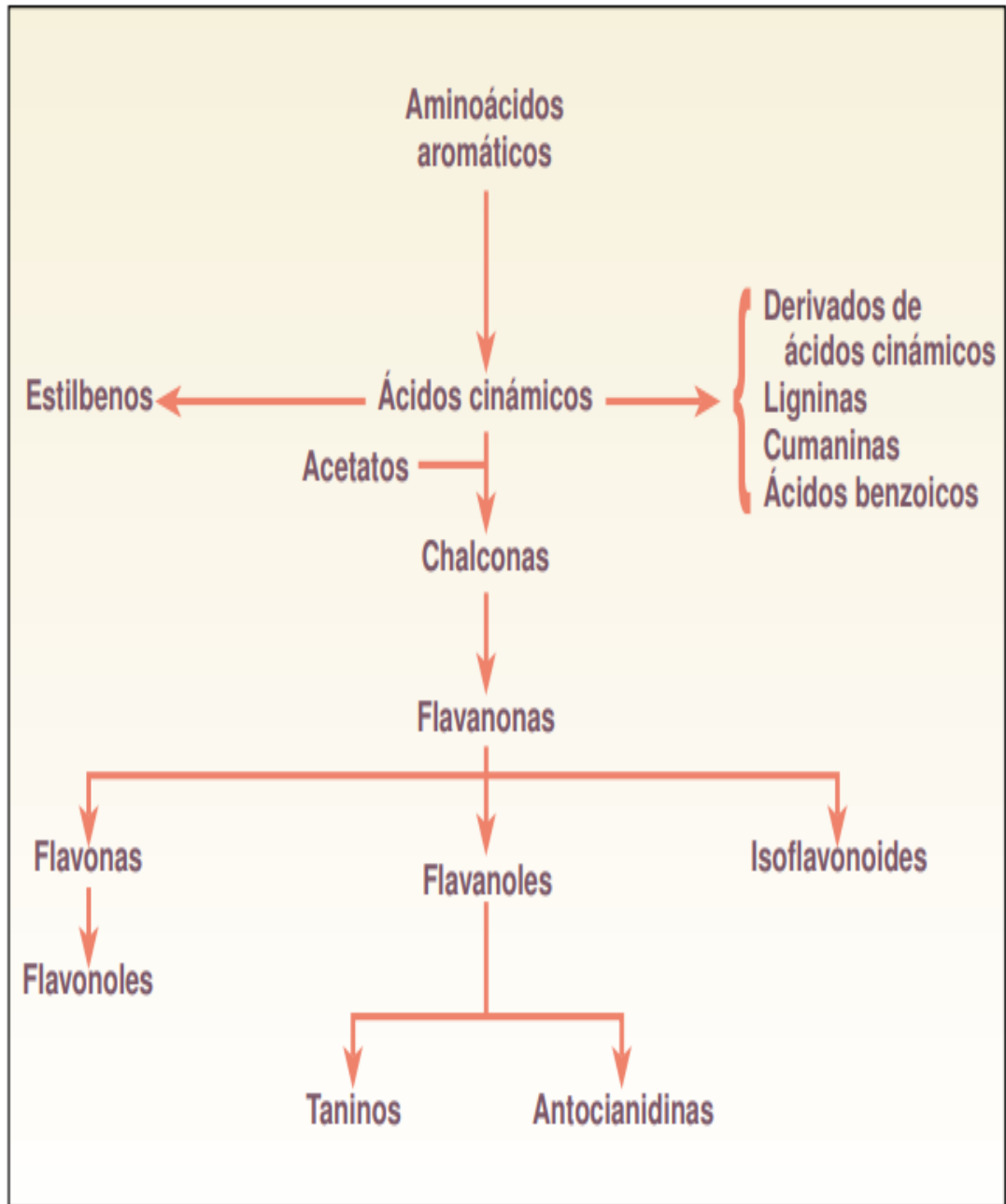
Los flavonoides o bioflavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que nos protegen del daño de los oxidantes. La contaminación ambiental se genera con la presencia de minerales tóxicos y las sustancias químicas presentes en los alimentos: Colorantes, conservantes, etc.

No son considerados por los nutricionistas como vitaminas; sin embargo, los flavonoides actúan protegiendo la salud: Limitan la acción de los radicales libres (oxidantes) reducen el riesgo de padecer de cáncer y enfermedades cardíacas, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumenta la actividad de la vitamina C, refuerzan los vasos sanguíneos, bloquean la progresión de las cataratas y la degeneración macular<sup>32</sup>.

Los compuestos fenólicos son grupo de metabolitos secundarios de las plantas que tienen en común uno o más substituyentes hidroxilo en un anillo aromático. Lo encontramos, con frecuencia, formando glicósidos. Tienen carácter polar y suelen ser solubles en agua, dan un intenso color

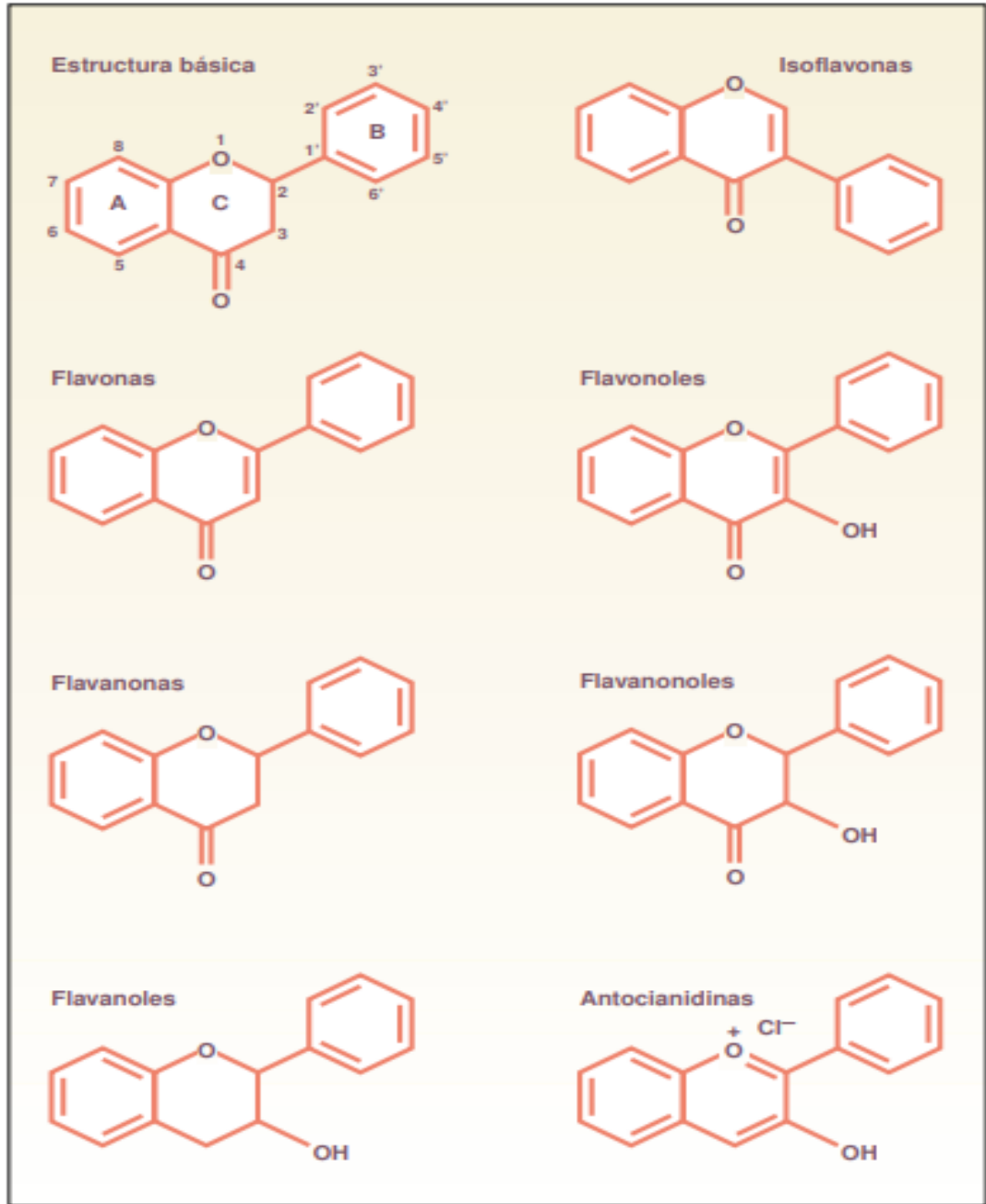
verde, púrpura, azul o negro, con solución acuosa o alcohólica al 1 % de cloruro férrico, propiedad que se aprovecha para detectar su presencia. En la región ultravioleta del espectro, dan una intensa absorción por su naturaleza aromática. Propiedad que se aprovecha para su identificación. Tenemos dos rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos; la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico. La ruta del ácido siquímico es responsable, en su gran mayoría, de biosíntesis de compuestos fenólicos en las plantas; a partir del ácido fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-P, se inicia una serie de reacciones para la producción de ácido siquímico y derivados aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina y triptófano). La fenilalanina da origen, en su mayoría, a los compuestos fenólicos. La ruta del ácido malónico es una importante fuente de fenoles en bacterias y hongos; en plantas superiores, es poco utilizada. La fenilalanina amonio liasa es una enzima que participa en la formación de ácido cinámico por eliminación de amonio de la fenilalanina. Las reacciones siguientes son adiciones de grupos hidroxilo y otros constituyentes. Los ácidos p-cumárico y trans-cinámico se metabolizan para formar ácido cafeico y ácido ferúlico, cuya función es ser precursor de cumarinas, ligninas, taninos, isoflavonoides y flavonoides<sup>33</sup>.

Los esteroides se componen de carbono e hidrógeno, derivan del núcleo del esterano; forman cuatro anillos fusionados, uno pentagonal y tres hexagonales; tienen 17 átomos de carbono. Los triterpenos se componen de 30 carbonos, formados por dos cadenas de 15 carbonos, cada uno formado por isopreno unidas cabeza cola, en total formado por 6 unidades de isopreno. Son, generalmente, pentacíclicos y tetracíclicos, las cuales pueden tener grupos cetónicos, ácido carboxílico e hidroxilo. Los esteroides y esterolés son parte de los triterpenos y derivan del escualeno, se denominan esterolés a los esteroides que contienen un grupo alcohol, los más abundantes en las plantas son el sitosterol y el estigmasterol<sup>33</sup>.



**Figura 3.** Ruta de biosíntesis de flavonoides y su relación con otros componentes

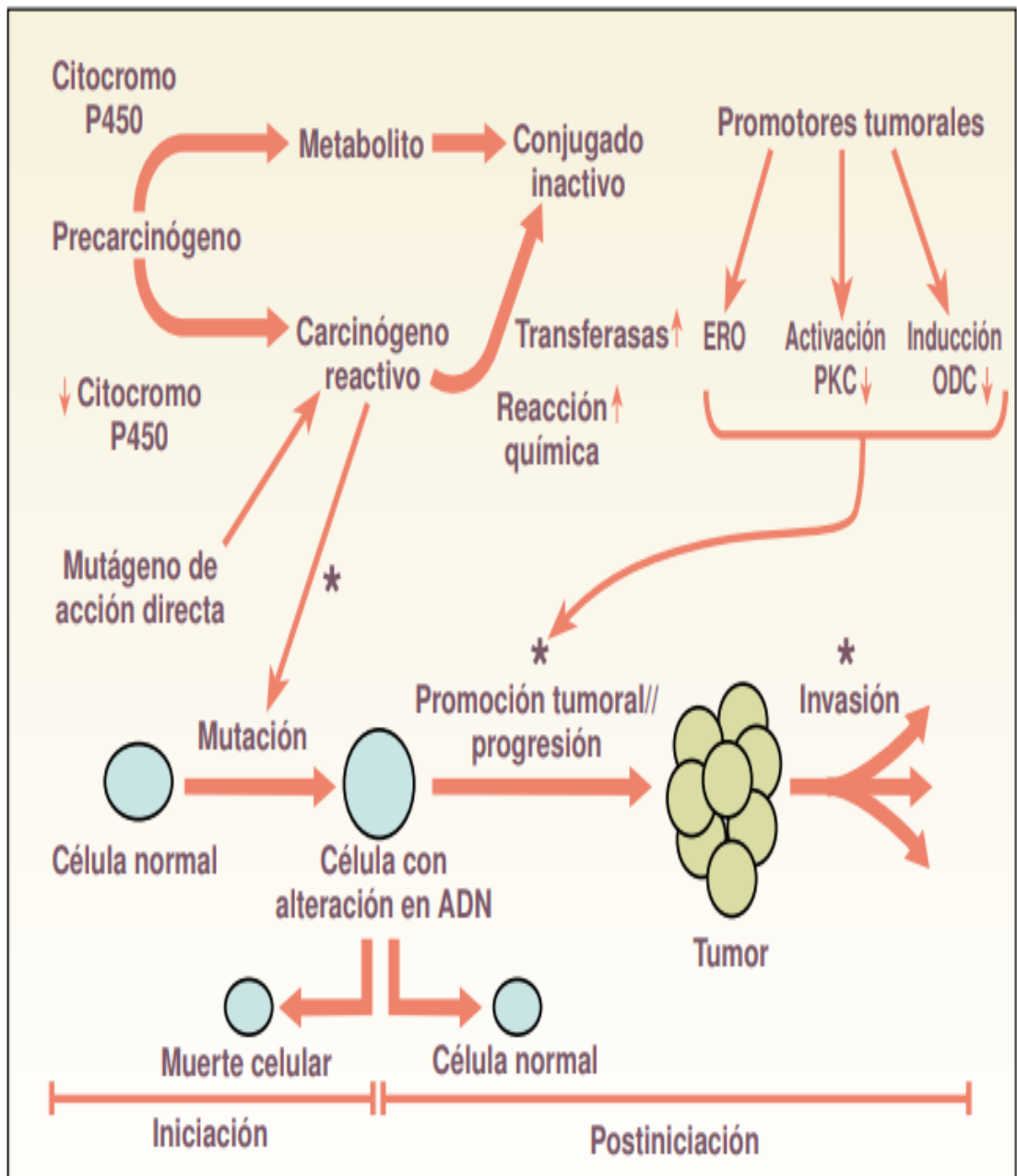
**Fuente:** Álvarez E. Actividad biológica de los flavonoides, acción frente al cáncer<sup>34</sup>.



**Figura 4.** Flavonoides y sub familias, estructura química básica

Fuente: Álvarez E. Actividad biológica de los flavonoides, acción frente al cáncer<sup>34</sup>.





**Figura 5.** Lugares posibles de interacción de los flavonoides en el cáncer

Fuente: Álvarez E. Actividad biológica de los flavonoides, acción frente al cáncer<sup>34</sup>.

### 2.2.9. Identificación de componentes químicos en extractos de plantas

Para identificar componentes químicos en extractos de plantas medicinales se emplean reactivos específicos los cuales confieren color y/o precipitan. Las características de estos se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4.** Identificación de principales grupos de componentes químicos en extractos de plantas

Identificación	Reactivo	Reacción positiva
Alcaloides	Bouchardat (solución de yodo iodurada)	Precipitado marrón
	Mayer (solución de yodo mercuriato potásico)	Precipitado blanco-amarillo
	Dragendorff (solución de yodo-bismutado potásico)	Precipitado naranja-rojizo
Antraquinonas	Bornträger	Coloración rojiza
Flavonoides	Mg <sup>++</sup> y unas gotas de alcohol/HCl	Color rojizo Naranja para flavonas, rojo-rojo cereza para flavonoles, rojo violáceo para flavononas
Saponinas	Soluciones acuosas	Producción de abundante espuma
Taninos	Gelatina salada (solución al 1% de gelatina y 10% de NaCl en agua)	Formación de precipitado, indican presencia de taninos hidrolizables o condensados
	Reacción stiasny (formol/HCl (2:1)) más calor	Precipitado floculoso presencia de taninos condensados
	Acetato sódico con unas gotas de Cl <sub>3</sub> Fe	Coloración azul, presencia de taninos hidrolizados

**Fuente:** Elaboración propia,2018

## 2.3. Formulación de la hipótesis

### 2.3.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico en ratones albinos

### 2.3.2. Hipótesis específicas

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” si tiene varios tipos de componentes químicos responsables del efecto analgésico en ratones albinos
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” si tiene una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” si tiene porcentajes de inhibición analgésica que genere efecto analgésico en ratones albinos

## 2.4. Operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Independiente: Extracto hidroalcohólico las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”	Los componentes químicos presentes en extractos de especies vegetales presentan propiedades biológicas muy variadas y suelen aplicarse en la terapia de diferentes enfermedades.	-Dosis -Porcentaje de inhibición	Saponinas, taninos, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos
Dependiente: Actividad	Los modelos de animales de	Cantidad de contorsiones	Número y % de inhibición de las

analgésica	experimentación son muy empleados en la valoración de actividad biológica de diferentes sustancias y sirven de sustento científico para el empleo efectivo y seguro de extractos vegetales		contorsiones abdominales
------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--------------------------

## 2.5. Definición de términos básicos

**1. Droga:** La OMS define como la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica<sup>43</sup>.

**2. Fitoterapia:** Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico<sup>43</sup>.

**3. Antioxidantes:** Conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales u oxidantes como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando sus funciones vitales<sup>43</sup>.

**4. Flavonoide:** Son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana<sup>37</sup>.

**5. Inmunidad:** Conjunto de mecanismos de defensa que le permiten a un organismo protegerse de los microorganismos que encuentra en su medio ambiente, evitar el desarrollo de células tumorales y eliminar moléculas

nocivas originadas en su interior como consecuencia del envejecimiento, infecciones, traumatismo o crecimiento neoplásico<sup>43</sup>.

**6. Inflamación:** Es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es normalmente una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso cáncer<sup>43</sup>.

**7. Metabolitos secundario:** Son compuestos de naturaleza química diversa, se distribuyen diferencialmente en grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones terapéuticas<sup>33</sup>.

**8. Reacciones de identificación:** “Las reacciones de identificación pueden ser; de coloración, de precipitación, de fluorescencia, microsublimación, cromatografía capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida que permiten detectar determinados constituyentes o sustancias químicas características de una planta (flavonoides, alcaloides, taninos, triterpenos, lactonas, etc.)”<sup>43</sup>.

**9. Plantas medicinales:** “Según la OMS, es aquella que en uno o más de sus órganos, contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica”<sup>43</sup>.

**10. Toxicidad.** Es la capacidad de una sustancia para producir daños a la salud de las personas que están en contacto con ella<sup>44</sup>.

## CAPÍTULO III

### MÉTODO

#### 3.1. Tipo de estudio

El presente es un estudio de tipo experimental, prospectivo, transversal

- a. Se denomina experimental, porque se trabajó con grupos controles, se manipuló la variable independiente al azar
- b. Se denomina prospectivo, porque se realizó del presente al futuro
- c. Se denomina transversal, porque se realizó a una sola medición

#### 3.2. Diseño del estudio

##### 3.2.1. Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “HIERBA SANTA”<sup>35</sup>.

Se usaron las hojas de Hierba Santa procedentes de la provincia de Tarma, departamento de Junín. Se recolectaron 1.5 Kg de hojas frescas las cuales fueron trasladados al laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Luego, se procedió a la selección, limpieza y desinfección con solución de hipoclorito de sodio, se colocó a la estufa para el secado; posteriormente, se trituró y se pesó 200 g de polvo seco, las cuales se macera en 1 L de etanol 70 % en frasco color ámbar herméticamente cerrado por 10 días con agitación diaria. Transcurrido este tiempo se filtró, primero, con gasa luego con papel de filtro N° 4. El líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco. El extracto obtenido se pesó, se almacenó en frasco color ámbar y se colocó a refrigeración hasta posterior uso.

### 3.2.2. Prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico<sup>36</sup>.

#### a) Prueba de Solubilidad

Se cogió una pequeña muestra de extracto seco, y para observar la solubilidad, se adicionó 1 mL de los siguientes reactivos de diferente polaridad:

Agua, etanol, metanol, n-butanol, acetato de etilo, cloroformo, benceno

#### b) Tamizaje Fitoquímico

Se cogió aproximadamente 20 mg de extracto seco, se solubilizó con solvente; luego, se agregó entre I a V gotas o mg de los reactivos siguientes:

Mayer, Dragendorf	Alcaloides
Tricloruro de aluminio, shinoda	Flavonoides
Tricloruro férrico 1 %	Compuestos fenólicos y/o taninos
Gelatina más cloruro de sodio	Taninos
Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides
Fehling a y Fehling B	Azúcares reductores
Ninhidrina	Grupo amino libre

### 3.2.3. Determinación de la actividad analgésica (Método Miño et al.)<sup>16</sup>.

#### a. Animales de experimentación

Se usó 42 ratones albinos ambos sexos de la especie *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB con peso promedio de  $28 \pm 5$  g adquiridos del Instituto Nacional de Salud (Centro Nacional de Productos Biológicos), mantenidas en condiciones normales de humedad y temperatura; ciclo luz – oscuridad de 12 horas luz y 12 horas noche. Los ratones se aclimataron por 7 días en el lugar de trabajo, se alimentan con agua y alimento obtenidos del Instituto Nacional de Salud.

## **b. Efecto analgésico**

Se usó la técnica del ácido acético 0,8 % mediante el método de contorsiones abdominales. Se formaron 7 grupos de 6 ratones cada uno distribuidos al azar:

**G1 Control blanco:** Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg) vía oral;

**G2 Control positivo:** Ácido acético 0,8 %

**G3 Control farmacológico:** Tramadol 40 mg/Kg + Ácido acético 0,8%

**G4 Control farmacológico:** Paracetamol 300 mg/Kg+Ácido acético 0,8 %

**G5 Prueba 1:** Extracto seco hierba santa 50 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %

**G6 Prueba 2:** Extracto seco hierba santa 100 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %

**G7 Prueba 3:** Extracto seco hierba santa 200 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %

Los tratamientos se administraron por vía oral mediante una cánula metálica intragástrica para ratones, 30 minutos luego de haber administrado los tratamientos farmacológicos, se administró, por vía intraperitoneal, ácido acético 0,8 % a dosis de 0,1 mL/10 g de peso corporal del ratón, inmediatamente se procedió a cuantificar el número de contorsiones abdominales de cada grupo de los ratones durante 20 minutos. La algesia se cuantificó mediante el porcentaje de inhibición en la reducción del número de contorsiones en los grupos tratados respecto al grupo control.

$$\% \text{ inhibición} = 100 - (Ct / Cc) \times 100$$

Ct: Número de contorsiones del grupo tratado

CC: Número de contorsiones del grupo control



### **3.2.4. Materiales, equipos y reactivos**

#### **a. Materiales**

Beacker de vidrio de 50 mL, 100 mL y 250 mL

Algodón CKF 200 g

Gasa médica 20 x 20 cm

Papel de filtro whatman N.º 4

Bagueta de vidrio

Gotero de plástico

Frasco de vidrio color ámbar de 1 L

Fuente de vidrio pírex

Guantes de látex descartable

Mascarilla descartable

Gorro descartable

Pipeta de vidrio 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL

Propipeta de goma

Mortero y pilón de porcelana

Espátula de metal

Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 mL

Probeta de 100 mL

Cocinilla eléctrica

Sonda orogástrica para ratones

Jaula de metal para ratones

Jeringa de insulina graduada 1 mL Terumo

#### **b. Equipos**

Balanza semi analítica marca Sartorius

Balanza analítica marca Sartorius

Balanza triple brazo

Estufa marca Memmert

Campana extractora

Molino casero

### **c. Reactivo**

Acetato de etilo

Agua destilada

Benceno

Cloroformo

Etanol

n-butanol

Metanol

Mayer

Draguendorff

Tricloruro férrico

Gelatina más cloruro de sodio

Fehling A y Fehling B

Tricloruro de aluminio

Shinoda

Ninhidrina

Liebermann – Burchard

Paracetamol Q.P.

Tramadol Q.P

Ácido acético

Extracto hidroalcohólico de las hojas de Hierba Santa

### **3.3. Población y muestra de la investigación**

Para el estudio de la actividad analgésica la población de estudio está conformada por ratones de la especie *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB con peso promedio de  $28 \pm 5$  g y la muestra es de 42 ratones con inducción a algesia con ácido acético de los cuales se observa el número de contorsiones abdominales como se describen en el diseño experimental.

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Los datos se recogieron en forma individual de cada muestra en estudio y se tabularon como se indica en los resultados.

### **3.5. Procesamiento de datos**

Los datos se expresan como media aritmética  $\pm$  error estándar, porcentajes, figuras. Para el análisis estadístico, se empleó el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA); para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, se realizó análisis post hoc de Tukey y la prueba de T de Dunnett. El nivel de significancia fijado fue  $P < 0.05$ . Se usó el software estadístico SPSS for Windows versión 20.

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 4.1. Presentación de resultados

##### 4.1.1. Prueba de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” evidenció ser muy soluble en agua y alcohol, poco soluble en metanol y cloroformo e insoluble n-butanol, Acetato de etilo y benceno, como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

Nº	Solvente	Solubilidad
1	Agua	+++
2	Etanol	+++
3	Metanol	+
4	N – butanol	-
5	Acetato de etilo	-
6	Cloroformo	+
7	Benceno	-

(+++)= Muy soluble

(+)= Poco soluble

(-)= Insoluble

Fuente: Elaboración propia,2018

#### 4.1.2. Principales grupos de componentes químicos

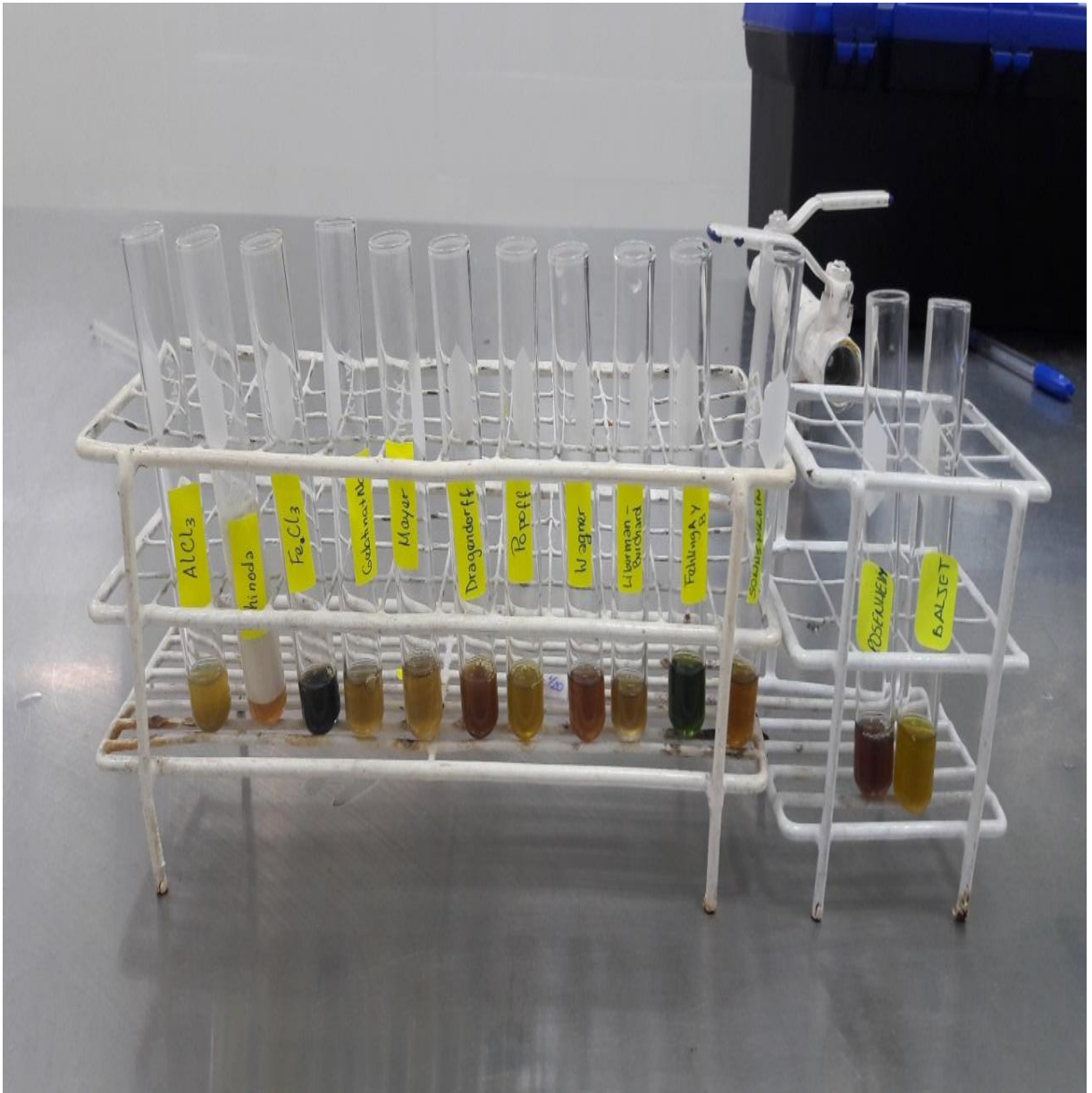
Los principales grupos de componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” se muestran en la tabla 6 y figura 6. Se hallaron la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides.

**Tabla 6.** Determinación de los principales grupos de componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

Nº	Reactivo	Metabolitos	Resultados
1	AlCl <sub>3</sub>	Flavonoides	+
2	Shinoda		+
3	FeCl <sub>3</sub>		+++
4	Gelatina	Taninos	++
5	Mayer	Alcaloides	++
6	Dragendorff		+
7	Popoff		+
8	Wagner		-
9	Sonneschein		+
10	Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	-
11	Fehling A y Fehling B	Azúcares reductores	-
12	Rosenheim	Leucoantocianidinas	-
13	Baljet	Sesquiterpenlactonas	-

(+) = Poco      (++) = Regular      (+++) = Abundante      (-) = Negativo

**Fuente:** Elaboración propia,2018



**Figura 6.** Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

**Fuente:** Elaboración propia, 2018

#### 4.1.3. Ensayo del efecto analgésico

En la tabla 7, se aprecia los resultados expresados en número y porcentaje de inhibición del efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”. La dosis del extracto de 200 mg/Kg mostró tener mayor porcentaje de inhibición que la dosis de 50 y 100 mg/Kg respectivamente, y comparado con el grupo control, su efecto es estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 7.** Promedio y porcentaje de inhibición del número de contorsiones abdominales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratones

Grupo	Tratamiento	Contorsiones abdominales	
		Promedio $\pm$ DE	% de inhibición
G1	SSF 5 mL/Kg v.o.	00 $\pm$ 00	0
G2	Ácido acético (AcOH) 0,8 %	39,3 $\pm$ 2,7	0
G3	Tramadol 40 mg/Kg + ÁcOH 0,8%	4,7 $\pm$ 1,2	88
G4	Paracetamol 300 mg/Kg + ÁcOH 0,8 %	19,5 $\pm$ 3,9	50
G5	Extracto Hierba santa 50 mg/Kg + ÁcOH 0,8 %	25,2 $\pm$ 3,8	36
G6	Extracto Hierba santa 100 mg/Kg + ÁcOH 0,8 %	22,8 $\pm$ 4,7	42
G7	Extracto Hierba santa 200 mg/Kg + ÁcOH 0,8 %	11,7 $\pm$ 3,0	70

$$\% \text{ inhibición} = 100 - (Ct / Cc) \times 100$$

Ct: Número de contorsiones del grupo tratado

CC: Número de contorsiones del grupo control

**Tabla 8.** Prueba de ANOVA del número de contorciones abdominales en los siete grupos experimentales

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6436.952	6	1072.825	106.926	.000
Intra-grupos	351.167	35	10.033		
Total	6788.119	41			

La prueba de ANOVA compara los grupos experimentales con el grupo control. En la tabla 8, se observa que existe diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos de tratamiento.

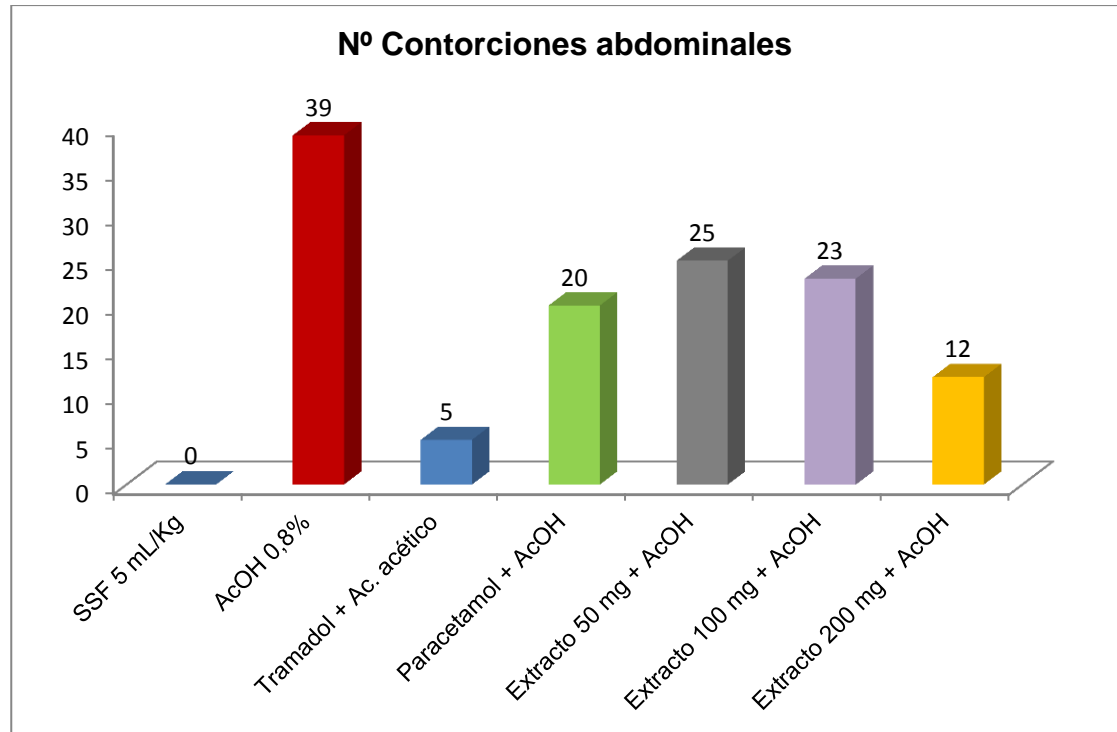
**Tabla 9.** Prueba Post hoc de HSD Tukey de las contorciones abdominales en los grupos de tratamiento

Prueba	Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			2	3	4
HSD de Tukey	Extracto 200 mg/Kg + Ac. acético	6	11.67		
	Paracetamol 300 mg/Kg+ Ac. acético	6		19.50	
	Extracto 100 mg/Kg + Ac acético	6		22.83	
	Extracto 50 mg/Kg + Ac. acético	6		25.17	
	Ácido acético 0,8%	6			39.33
Sig.			1.000	.053	1.000

En la tabla 9, se aprecia los grupos que estadísticamente tienen efectos similares, estos son extracto 200 mg/Kg (11,67); paracetamol 300 mg/Kg (19,50); extracto 100 mg/Kg (22.83); extracto 50 mg/Kg (25,17); Ácido acético 0,8% (39,33).



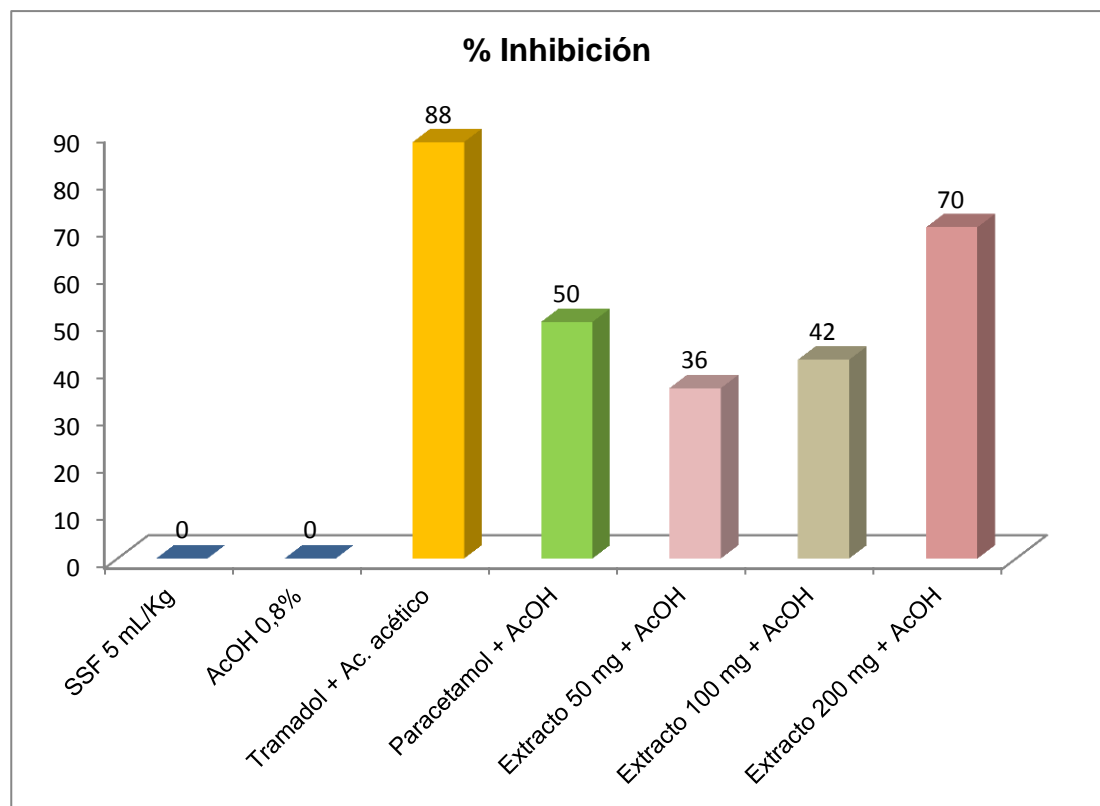
En la figura 7, se observa que las contorciones producidas por el ácido acético fueron de 39 y es muy superior a los grupos que fueron tratados, el menor número de contorciones fue para el grupo de tramadol 40 mg/Kg ( $p < 0,05$ ), el menor número de contorciones del tratamiento con el extracto fue para la dosis de 200 mg/Kg siendo el efecto dosis dependiente.



Fuente. Elaboración propia, 2018

**Figura 7.** Promedio del número de contorciones abdominales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratones

En la figura 8, se observa que el mayor porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” fue de 70% para la dosis de 200 mg/Kg, seguido de la dosis de 100 mg/Kg (42%) y 50 mg/Kg (36%); es decir, el efecto de inhibición analgésica fue dosis dependiente; así mismo, se aprecia que el porcentaje de inhibición de la dosis de 200 mg/Kg del extracto fue superior al grupo de paracetamol 300 mg/Kg e inferior al grupo del tramadol 40 mg/Kg.



**Fuente.** Elaboración propia, 2018

**Figura 8.** Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” sobre las contorciones abdominales en ratones.

**Tabla 10.** Prueba Post hoc de T de Dunnett de las contorciones abdominales en los grupos de tratamiento.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Grupo control Ácido acético 0,8%	Tramadol + Ac. acético	.000	29.45	39.88
Grupo control Ácido acético 0,8%	Paracetamol + Ac. acético	.000	12.09	27.58
Grupo control Ácido acético 0,8%	Extracto 50 mg + Ac. acético	.001	6.61	21.72
Grupo control Ácido acético 0,8%	Extracto 100 mg + Ac acético	.001	7.44	25.56
Grupo control Ácido acético 0,8%	Extracto 200 mg + Ac. acético	.000	21.27	34.07

En la tabla 10, se observa que existe diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos comparados con el grupo control; en los límites de intervalo de confianza se aprecia que son del mismo signo; por tanto, indican que los promedios son diferentes.

#### 4.2. Contrastación de hipótesis

$H_{E1}$ : El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” presenta varios tipos de componentes químicos responsables del efecto analgésico en ratones albinos

$H_0$ : El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” no presenta varios tipos de componentes químicos responsables del efecto analgésico en ratones albinos

Luego de realizar el tamizaje fitoquímico se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *cestrum auriculatum* heritier “Hierba Santa” presenta algunos tipos de metabolitos secundarios tales como flavonoides, taninos y alcaloides, resultados que se encuentran en la tabla N°6.

Decisión: En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula

H<sub>E2</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “*Hierba Santa*” si tiene una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos

H<sub>0</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “*Hierba Santa*” no tiene una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos

Se encontró significatividad en los resultados estadísticos del ANOVA y el Tes de Tukey que desde la media hora de aplicada la dosis del extracto hidroalcohólico de 200mg/Kg tiene efecto analgésico en las contorciones abdominales inducido en ratones albinos, como se puede ver en la tabla N°7 y 10.

Decisión: En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula

H<sub>E3</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “*Hierba Santa*” si tiene porcentajes de inhibición que genere efecto analgésico en ratones albinos

H<sub>0</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “*Hierba Santa*” no tiene porcentajes de inhibición que genere efecto analgésico en ratones albinos

Se encontró significatividad en los resultados estadísticos del ANOVA y el Tes de Tukey que desde la media hora de aplicada la dosis del extracto hidroalcohólico de 200mg/Kg y el tramadol 40mg/Kg tienen efecto analgésico similar, teniendo un porcentaje de 70% (dosis del extracto hidroalcohólico 200mg/Kg) y 88% (tramadol 40mg/Kg) en las contorciones abdominales inducido en ratones albinos, como se puede ver en la tabla N°8 y 9.

Decisión: En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula

H<sub>g</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico en ratones albinos

H<sub>0</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” no tiene efecto analgésico en ratones albinos

Se acepta la hipótesis general al comprobar que la dosis del extracto hidroalcohólico de 200mg/Kg tiene efecto analgésico en las contorciones abdominales inducido en ratones albinos.

Decisión: En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula de la hipótesis general

#### **4.2.1. PRUEBA ESTADÍSTICA**

Los datos tienen distribución normal y se trabajó con más de tres grupos, se realizó el análisis ANOVA (Análisis de varianza). Para determinar la significancia estadística para la variable intergrupos e intragrupos se realizó el análisis post hoc mediante la prueba de tukey y prueba de Dunnett.

#### **4.2.2. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 20, y los resultados se expresaron en promedios y porcentajes presentados en tablas y gráficos, se trabajó a un nivel de significancia del 95% ( $p < 0,05$ ).

### 4.3. Discusión de resultados

El presente trabajo de investigación ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” presentó efecto analgésico en ratones albinos. Estos hallazgos son explicados a continuación.

En la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” se halló que es muy soluble en agua y alcohol, poco soluble en metanol (solventes polares) y cloroformo e insoluble n-butanol; acetato de etilo y benceno (tabla 5), por el cual se deduce que la mayor parte de los componentes químicos son de estructura polar. La aglicona hidroxilada de los flavonoides es por lo general soluble en solventes polares como el agua, el etanol y metanol, así mismo sus glicósidos son solubles en agua<sup>37</sup> Los alcaloides en su estructura contienen nitrógeno básico y suelen formar sales con ácidos orgánicos y minerales los cuales son solubles en agua<sup>38</sup>.

Huarcaya L, Sotelo N. en su investigación de la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de las flores de *biden sandicola* H.B.K.” quiquo”, complementan y corroboran la solubilidad en solventes polares<sup>45</sup>.

En el análisis de componentes químicos se halló la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides (tabla 6), los flavonoides en su estructura química contienen grupos hidroxilos fenólicos que le confieren propiedades frente al daño oxidativo y otras propiedades terapéuticas como antiinflamatorios, cardiopatía isquémica, cáncer<sup>37</sup>.

Estudios realizados con la misma especie vegetal a nuestro estudio, confirman la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *cestrun auriculatum heritier*, reportado por Torres, C., Lenin, W., & Zelada Sánchez, I. O.<sup>47</sup>.

Investigaciones previas indican que los flavonoides son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica el cual depende no sólo de su

liposolubilidad sino también de su conjugación intestinal y hepático, así como la unión a transportadores específicos dependientes de ATP el cual puede modificar la respuesta biológica al modular la reacción del cuerpo ante xenobióticos<sup>39</sup>. A las flavonas crisina y epigenina obtenida de la *Passiflora coerulea* (pasiflora) se le atribuye propiedades ansiolíticas por su afinidad a los receptores GABA con escasa propiedad sedante y miorrelajante<sup>39</sup>. Estas acciones podrían estar asociadas a las propiedades analgésicas hallados para la hierba santa ya que la modulación de los receptores GABA tienen cierto efecto analgésico y sus hojas han sido usadas popularmente para calmar el susto con cierto efecto calmante y su capacidad de inhibir la fiebre probablemente por su acción sobre las ciclooxigenasas<sup>2</sup>. Por otro lado, a los alcaloides también se le atribuyen propiedades analgésicas como es el caso de la atropina, morfina entre otros<sup>36</sup>.

Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., & Araujo-Escalona, A. G. en su investigación los flavonoides y el sistema nervioso central, complementan y corroboran las propiedades analgésicas de los flavonoides<sup>39</sup>.

La mayoría de las investigaciones experimentales preclínico se emplea el modelo de contorciones abdominales para determinar acciones analgésicas de mecanismos periféricos en ratones, de allí mismo validar la actividad analgésica, utilizando ácido acético a diferentes concentraciones al 0,75%<sup>18</sup>. 0,6%<sup>14</sup>. 1,0%<sup>15</sup>.

En el presente estudio se empleó ácido acético al 0,8% por vía intraperitoneal en el cual se determinó el efecto analgésico. Los fármacos de referencia que se emplearon fueron el Paracetamol 300 mg/Kg y Tramadol 40 mg/Kg, la dosis del extracto con mejor efecto analgésico fue de 200 mg/Kg (70% de inhibición), seguido de 100mg/Kg (42% de inhibición), seguido de 50mg/Kg (36% de inhibición) y el tramadol obtuvo 88% y paracetamol 50% de inhibición (tabla 7).

En un estudio realizado al extracto etanólico de las flores de *Bidens andicola* H.B.K. “quiwo”, presentaron sus resultados de sus extractos a dosis diferentes (50, 100 y 200 mg/kg) con un porcentaje de inhibición de 55 %, 65 %, 70 %, respectivamente, los cuales son cercanos a los porcentajes de los estándares en comparación tales como: El Paracetamol de 300 mg/kg (81 %), sin superar al Tramadol 40 mg/kg (91 %), esta investigación muchas resultados semejantes a nuestro estudio realizado<sup>45</sup>.

El tramadol es un fármaco usado como analgésico para tratar dolor moderado a intenso, con efecto opiáceo débil y disminución de los neurotransmisores serotonina y noradrenalina y efecto similar a los anestésicos locales en los nervios periféricos<sup>40</sup>. En un modelo de incisión plantar en ratón se halló que el tramadol presentó efecto analgésico local el cual no fue mediado por receptores opioides periféricos<sup>41</sup>. Estudios previos han demostrado que el paracetamol tiene menor potencia y eficacia analgésica que el tramadol<sup>42</sup>.

Estudios realizados con la misma especie vegetal a nuestro estudio, confirman el efecto analgésico del tramadol 40mg y del paracetamol 300mg, evidenciando el poder analgésico del tramadol sobre el paracetamol en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* heritier, reportado por Torres, C., Lenin, W., & Zelada Sánchez, I. O.<sup>47</sup>.

Efecto similar se halló en el presente estudio. Todos los grupos disminuyeron significativamente las contorciones abdominales inducidas por el ácido acético 0,8% comparados con el grupo control, el efecto analgésico fue a dosis dependiente, es decir al aumentar la dosis del extracto aumento el efecto analgésico. Según nuestro resultado el efecto analgésico es menor al de un fármaco opioide (tramadol) y similar a un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (paracetamol) tal como se muestra en la figura 7 y 8.



## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

1. Los tipos de componentes químicos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” son los flavonoides, taninos y alcaloides a los cuales se le atribuye su efecto analgésico.
2. La dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que presentó efecto analgésico fue 200 mg/Kg.
3. El porcentaje de inhibición analgésica de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” fue 50 mg/Kg 36% de inhibición; 100 mg/Kg 42% de inhibición y 200 mg/Kg 70 % de inhibición.

#### 5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios toxicológicos a corto, mediano y largo plazo para determinar posibles reacciones adversas.
2. Realizar estudios preclínicos con otros modelos experimentales como el método del plato caliente, retirada de la cola o incisión plantar en ratones para evaluar su efecto analgésico y antiinflamatorio, así como estudios histológicos
3. Realizar estudios farmacológicos a nivel molecular para determinar el mecanismo de acción analgésica sobre receptores opioides, ciclooxigenasa, GABA, entre otros.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril 2018. URL disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
2. OMS. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medinas tradicionales. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril 2018. URL disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
3. Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la OMS. Dolor iatrogénico. Instituto Madrileño de Oncología San Francisco de Asís. Madrid. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril ;2018. URL disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/anestesiologia/tipos\\_de\\_dolor.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/anestesiologia/tipos_de_dolor.pdf)
4. OMS. Cuidados paliativos. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril 2018. URL disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/palliative-care>
5. Morales M, Morales J... Plantas medicinales, fitofármacos y fitomedicamentos hacia una fitomedicina (fitoterapia moderna y racional), basado en la evidencia científica. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril 2018. URL disponible en: <file:///C:/Users/Nesquen/Downloads/PlantasMedicinalesyFitofarmacos.pdf>
6. López M. Manual de Plantas Medicinales para Guinea Ecuatorial. Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID). Fundación de Religiosos para la Salud (FRS). 1era edición. Ecuador. 2012
7. Cytel - CNPq. Métodos de la evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2001; 60 – 71
8. Griego J, Gómez M, Gomezese O, Cadavid A, Yepes C, Cifuentes L, et al. Adaptación colombiana de las guías de neuroestimulación espinal en el manejo del dolor crónico e isquémico. Colombian Journal Of Anesthesiology / Revista Colombiana De Anestesiología. 2016; 44(4): 334-340

9. Medrano R, Varela A, Domínguez M, Pardo G, Acosta Y, Pardo C. Aspectos epidemiológicos relacionados con el dolor en la población adulta. AMC, Camagüey;2010; 14(4)
10. International Association for the study of pain. Epidemiología del dolor neuropático. (En Línea). Fecha de acceso 27 abril 2018. URL disponible en: [https://s3.amazonaws.com/rdcms-iasp/files/production/public/AM/Images/GYAP/Neuropathic/Epidemiology%20of%20Neuropathic%20Pain\\_ES\(ES\).pdf](https://s3.amazonaws.com/rdcms-iasp/files/production/public/AM/Images/GYAP/Neuropathic/Epidemiology%20of%20Neuropathic%20Pain_ES(ES).pdf)
11. Robles V, Tarqui L, Rodríguez N, Morales A, De la Cruz J, Ríos K, Rivera D, Rubio A, Santa Cruz C, Velazco G, Loja B, Alvarado A, Castañeda B, Salazar a. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz % Pav.) Briq. “chuchuhuasi” mediante la prueba de contorsiones abdominales en ratones. Horiz. Med;2014; 14(1): 6-10
12. Betancourt J, Gorriti A, Córdova A, Ríos F, Ríos D, Flores G, Guzmán M, López D, Cruz A. Actividad analgésica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Bixa Orellana L.* en ratones albinos. Ciencia e investigación. Universidad Nacional Mayor de San Marcos;2006; 9(2): 69-72
13. Rivas E, Lengua L, Liu H, Salazar A, Román L, Salvador L, Ravanal P, Castañeda B, Manrique R, Ibañez L. Estudio de la actividad analgésica de extractos metanólicos de *Maytenus krukovit* (chuchuhuasi), *Alchornea castaneifolia* (hipotuto), *Sambucus nigra* (caúco) y *Aristeguieta discolor* (pulmonaria) en ratones frente al ibuprofeno. Horizonte Médico. Lima;2005; 5(1): 57-61
14. Sánchez N, Bu M, Pérez H, Lara G, Scull I. Efecto del zumo de *Morinda citrifolia L.* (noni) en modelos de analgesia. Rev. Cubana. Plant. Med;2012; 17(3): 213-222
15. Marrassini C, Gorzalczany S, Ferraro G. Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina. Dominguez la;2010; 26(1): 21-29

16. Miño J, Gorzalczany S, Moscatelli V, Ferraro G, Acevedo C, Hnatyszyn O. Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. (Ceibo). *Acta Farm. Bonaerense*. 2002; 21(2): 93-98
17. Garcia G, Del Río R, Guzmán R, Martínez M, Scior T. Estudios preliminares sobre el efecto analgésico del extracto de hojas de *Ageratina glabrata* en dos modelos térmicos de dolor agudo. *Rev. Mez. Cienc. Farm.* 2011; 42(1): 45-51
18. Morón F, Victoria M, Morejón Z, López M, Garcia A, Fuentes V, Robineau L, Campo C. Tamizaje fitoquímico, actividad analgésica y antiinflamatoria de decocción de *Costus pictus* D. Don. *Rev. Cubana Plant Med.* 2008; 13(4)
19. Zegarra P. Physiopathological bases of the pain. *Acta Med Per.* 2007; 24(2): 105-108
20. Zapata J. Mecanismos y vías del dolor. (En Línea). Fecha de acceso 01 mayo 2018. URL disponible en:  
[https://51722c6e-a-62cb3a1a-sites.googlegroups.com/site/jgzapatae3/Dolor/MecanismosyViasdelDolor.pdf?attachauth=ANoY7cqilxubulDXMv4tHmiZAj3JAApyHxVM4R\\_sFDPBgMv5oSljsCRab45zJ62Ac-mxrZ5fmNNF6PRQrcRKAXy2Cn9zzbWBKnHskSUVk6Wn2b2Rj1aMtoHHGILV-xEgyQFIP7TLTS3pHHRxZ68Zk2\\_PEn3oEwGk6o4vjp-5beFc3jmQA00yBkokEyLtQ4NtU70UHhQjIjnxNFaMOV6juW2kVQDhAaYHMy\\_964YKfQh7-OUaeKIPL00%3D&attredirects=0](https://51722c6e-a-62cb3a1a-sites.googlegroups.com/site/jgzapatae3/Dolor/MecanismosyViasdelDolor.pdf?attachauth=ANoY7cqilxubulDXMv4tHmiZAj3JAApyHxVM4R_sFDPBgMv5oSljsCRab45zJ62Ac-mxrZ5fmNNF6PRQrcRKAXy2Cn9zzbWBKnHskSUVk6Wn2b2Rj1aMtoHHGILV-xEgyQFIP7TLTS3pHHRxZ68Zk2_PEn3oEwGk6o4vjp-5beFc3jmQA00yBkokEyLtQ4NtU70UHhQjIjnxNFaMOV6juW2kVQDhAaYHMy_964YKfQh7-OUaeKIPL00%3D&attredirects=0)
21. Guyton A. Somatic sensations. II. Pain, headache, and thermal sensations. In: Guyton A, editor. *Textbook of medical physiology*. 8va edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991; 520
22. Lawson S, Crepps B, Perl E. Calcitonin gene related peptide immunoreactivity and afferent receptive properties of dorsal root ganglion neurons in guineapigs. *J Physiol* 2002; 540
23. Arbaiza D. Neurofisiología del dolor. (En Línea). Fecha de acceso 01 mayo 2018. URL disponible en:

[https://www.grunenthal.com.ec/cms/cda/\\_common/inc/display\\_file.jsp?fileID=69100179](https://www.grunenthal.com.ec/cms/cda/_common/inc/display_file.jsp?fileID=69100179)

24. Allen F, Faaem F. The Pathophysiology of Acute Pain. *Emerg Med Clin N Am.* 2005; 23
25. Jordan B, Devi L. Molecular mechanisms of opioid receptor signal transduction. *Br J Anaesth.* 1998; 81:129
26. Fernández E. Opioides, mecanismos de acción. Foro de investigación y tratamiento del dolor para la Comunidad Médica. (En Línea). Fecha de acceso 01 mayo 2018. URL disponible en:  
<http://132.248.9.34/hevila/DolorclinicayterapiaRevistamexicanadealgologia/2002-03/vol1/no10/5.pdf>
27. Rang H, Dale M, Ritter J, Moore P. *Farmacología.* 5ta edición. Editorial Elsevier. España. 2004; 217-260
28. Lansky E, Newman R. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology.* 2007; 109: 177-206
29. Gómez R, Santos G, Doménech M, Cortéz R, Cienfuego A. Antiinflamatorios no esteroideos. (En Línea). Fecha de acceso 01 mayo 2018. URL disponible en:  
<http://www.svreumatologia.com/wp-content/uploads/2008/04/Cap-26-Antiinflamatorios-no-esteroideos.pdf>
30. Muriel C, Santos J, Sánchez F. *Farmacología de los analgésicos no opioides.* (En Línea). Fecha de acceso 01 mayo 2018. URL disponible en:  
<http://www.catedradeldolor.com/PDFs/Cursos/Tema%206.pdf>
31. Saavedra J. *Las plantas medicinales de la sierra central de Piura. Espacio y Desarrollo.* 1995. URL disponible en:  
<file:///C:/Users/Nesquen/Downloads/Dialnet-PlantasMedicinalesDeLaSierraCentralDePiura-5339610.pdf> Fecha de acceso 18 de enero 2018

32. León J. "Efecto hipoglicemiante del extracto de las hojas de frutiPan (Artocarpus Altilis) en ratas (rattus novergicus) con hiperglicemia inducida". Rev. Scientia Agropecua. 2013; (4): 275 -283
33. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3): 119-145
34. Álvarez E, Orallo F. Actividad biológica de los flavonoides. Acción frente al cáncer. Offarm. 2003; 22(10): 130-140
35. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioquímicos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995. p. 220
36. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. Segunda Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994
37. Martínez S, González J, Culebras M, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17(6): 271-278
38. Reyna V. Alcaloides. Universidad Nacional de Ingeniería. Escuela de Química. 2014.
39. Estrada R, Ubaldo D, Araujo A. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud Mental. 2012;35(5): 375-384
40. Sousa M, Ashmawi A, Costa S, et al. Tramadol, fentanyl and sufentanil but not morphine block voltaje-operated sodium channels. Pain. 2006; 126: 234-244
41. Sousa A, Ashmawi H. El efecto analgésico del tramadol no está mediado por receptores opiáceos en el dolor en ratones en el postoperatorio inmediato. Rev. Bras Anesthesiol. 2015; 65(3): 186-190
42. López F, Moreno L, Moreno J, Domínguez A, Bravo G. Análisis pre clínico (rata) de efectos antinociceptivos de asociación entre tramadol y acetaminofeno. Revista Mexicana de Anestesiología. 2006; 29(4): 215-220
43. Ramírez Roca, E. G. (2014). Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de Chuquiraga lessing" Huamanpinta"
44. Manahan, S. E. (2006). Introducción a la química ambiental. Reverté.

45. Huarcaya L, Sotelo N. Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de las flores de *Bidens andicola* H.B.K “quiquo”. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2018.
46. Ortiz M. Actividad analgésica del extracto etanólico del Fruto Valle a *stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones. Título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima, Perú. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2016.
47. Torres, C., Lenin, W., & Zelada Sánchez, I. O. (2018). Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *cestrum auriculatum* heritier “hierba santa” en ratas con inducción a inflamación.

## ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia

Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “hierba santa” en ratones albinos

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p><b>GENERAL</b> ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto analgésico en ratones albinos?</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b> 1. ¿Cuáles serán los tipos de componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto analgésico en ratones albinos?</p> <p>2. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba</p>	<p><b>GENERAL</b> Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico en ratones</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b> 1. Determinar si los componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” presenta efecto analgésico en ratones albinos</p> <p>2. Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum</i></p>	<p><b>GENERAL</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tiene efecto analgésico en ratones albinos</p> <p><b>ESPECÍFICAS</b> 1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” si tiene varios tipos de componentes químicos responsables del efecto analgésico en ratones albinos</p> <p>2.El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” si tiene</p>	<p><b>VI</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”</p> <p><b>VD</b> Actividad analgésica</p>	<p>-Dosis -porcentaje de inhibición</p> <p>Cantidad de contorsiones</p>	<p>Constituyentes químicos</p> <p>Número y % de inhibición de contorsiones abdominales</p>	<p>G1 Control blanco: Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg) vía oral;</p> <p>G2 Control positivo: Ácido acético 0,8 %</p> <p>G3 Control farmacológico: Tramadol 40 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %</p> <p>G4 Control farmacológico: Paracetamol 300 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %</p> <p>G5 Prueba 1: Extracto seco hierba santa 50 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %</p> <p>G6 Prueba 2: Extracto seco hierba santa 100 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %</p> <p>G7 Prueba 3: Extracto seco hierba santa 200 mg/Kg + Ácido acético 0,8 %</p>



<p>Santa” tendrá una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos?</p> <p>3. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de Cestrum auriculatum Heritier “Hierba Santa” que porcentaje de inhibición analgésica tendrá para que genere efecto analgésico en ratones albinos?</p>	<p>auriculatum Heritier “Hierba Santa” tendrá una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos</p> <p>3. Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de Cestrum auriculatum Heritier “Hierba Santa” que porcentaje de inhibición analgésica tendrá para que genere efecto analgésico en ratones albinos</p>	<p>una dosis optima que genere efecto analgésico en ratones albinos</p> <p>3.El extracto hidroalcohólico de las hojas de Cestrum auriculatum Heritier “Hierba Santa” si tiene porcentajes de inhibición analgésica que genere efecto analgésico en ratones albinos</p>				
	<p><b>Enfoque:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Tipo:</b> Experimental</p> <p><b>Tipo de estudio:</b> Estudio prospectivo, Transversal, experimental.</p>	<p><b>Población:</b> Ratones ambos sexos albinos con peso promedio 28 ± 5 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud</p> <p><b>Muestras:</b> 42 ratones con inducción a algesia con el ácido acético</p>	<p><b>Técnica:</b> Observación</p> <p><b>Instrumento:</b> Ficha de observación</p>	<p><b>Diseño de Investigación:</b> Diseño para evaluar la actividad analgésica inducida a contorsiones abdominales</p>		

**Anexo 2.** Análisis ANOVA de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “hierba santa” en ratones

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6436.952	6	1072.825	106.926	.000
Intra-grupos	351.167	35	10.033		
Total	6788.119	41			

**Anexo 3:** Análisis de comparaciones múltiples post hoc prueba de tukey actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “hierba santa” en ratones

	(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	Acido acético 0,8%	-39.333	1.829	.000	-45.05	-33.62
		Tramadol + Ac. acético	-4.667	1.829	.172	-10.38	1.05
		Paracetamol + Ac. acético	-19.500	1.829	.000	-25.22	-13.78
		Extracto 50 mg + Ac. acético	-25.167	1.829	.000	-30.88	-19.45
		Extracto 100 mg + Ac acético	-22.833	1.829	.000	-28.55	-17.12
		Extracto 200 mg + Ac. acético	-11.667	1.829	.000	-17.38	-5.95
	Acido acético 0,8%	SSF 5 mL/Kg	39.333	1.829	.000	33.62	45.05
		Tramadol + Ac. acético	34.667	1.829	.000	28.95	40.38
		Paracetamol + Ac. acético	19.833	1.829	.000	14.12	25.55
		Extracto 50 mg + Ac. acético	14.167	1.829	.000	8.45	19.88
		Extracto 100 mg + Ac acético	16.500	1.829	.000	10.78	22.22
		Extracto 200 mg + Ac. acético	27.667	1.829	.000	21.95	33.38
	Tramadol + Ac. acético	SSF 5 mL/Kg	4.667	1.829	.172	-1.05	10.38
		Acido acético 0,8%	-34.667	1.829	.000	-40.38	-28.95
		Paracetamol + Ac. acético	-14.833	1.829	.000	-20.55	-9.12
		Extracto 50 mg + Ac. acético	-20.500	1.829	.000	-26.22	-14.78
		Extracto 100 mg + Ac acético	-18.167	1.829	.000	-23.88	-12.45
		Extracto 200 mg + Ac. acético	-7.000	1.829	.008	-12.72	-1.28
	Paracetamol + Ac. acético	SSF 5 mL/Kg	19.500	1.829	.000	13.78	25.22
		Acido acético 0,8%	-19.833	1.829	.000	-25.55	-14.12
		Tramadol + Ac. acético	14.833	1.829	.000	9.12	20.55
		Extracto 50 mg + Ac. acético	-5.667	1.829	.053	-11.38	.05
		Extracto 100 mg + Ac acético	-3.333	1.829	.542	-9.05	2.38
		Extracto 200 mg + Ac. acético	7.833	1.829	.002	2.12	13.55
	Extracto 50 mg + Ac. acético	SSF 5 mL/Kg	25.167	1.829	.000	19.45	30.88
		Acido acético 0,8%	-14.167	1.829	.000	-19.88	-8.45
		Tramadol + Ac. acético	20.500	1.829	.000	14.78	26.22
Paracetamol + Ac. acético		5.667	1.829	.053	-.05	11.38	
Extracto 100 mg + Ac acético		2.333	1.829	.858	-3.38	8.05	
Extracto 200 mg + Ac. acético		13.500	1.829	.000	7.78	19.22	
Extracto 100 mg + Ac acético	SSF 5 mL/Kg	22.833	1.829	.000	17.12	28.55	
	Acido acético 0,8%	-16.500	1.829	.000	-22.22	-10.78	
	Tramadol + Ac. acético	18.167	1.829	.000	12.45	23.88	
	Paracetamol + Ac. acético	3.333	1.829	.542	-2.38	9.05	
	Extracto 50 mg + Ac. acético	-2.333	1.829	.858	-8.05	3.38	
	Extracto 200 mg + Ac. acético	11.167	1.829	.000	5.45	16.88	
Extracto 200 mg + Ac. acético	SSF 5 mL/Kg	11.667	1.829	.000	5.95	17.38	
	Acido acético 0,8%	-27.667	1.829	.000	-33.38	-21.95	
	Tramadol + Ac. acético	7.000	1.829	.008	1.28	12.72	
	Paracetamol + Ac. acético	-7.833	1.829	.002	-13.55	-2.12	
	Extracto 50 mg + Ac. acético	-13.500	1.829	.000	-19.22	-7.78	
	Extracto 100 mg + Ac acético	-11.167	1.829	.000	-16.88	-5.45	

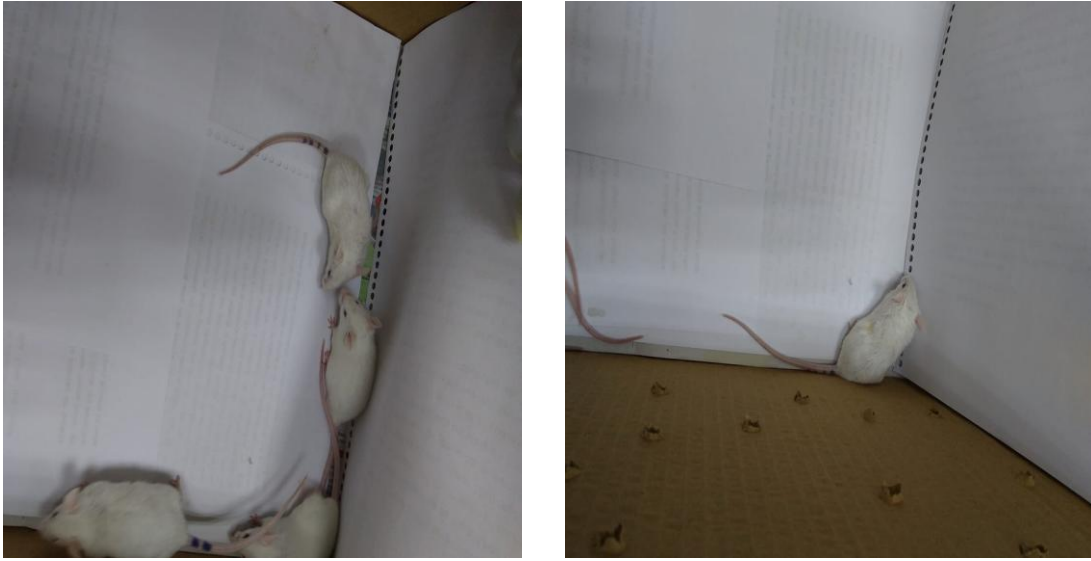
## Anexo 4. Testimonios fotográficos



**Foto 1.** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “hierba santa” y material farmacológico



**Foto 2.** Preparación del material farmacológico y administración intraperitoneal



**Foto 3.** Observación de las contorciones abdominales en ratones inducidos por ácido acético