



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA
RAÍZ *VALLEA STIPULARIS* L.F. “Chuillur” EN RATONES.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Presentado por:

Br.: Katheryn Elizabeth Picho Hurtado

Asesora:

Dra. Juana Elvira Chávez Flores

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A Dios por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante, por guiarme en este trayecto de mi vida personal, profesional, por guiar mis caminos, y el amor a mi carrera.

A mis padres, Elsa y Raúl, por brindarme su amor incondicional, paciencia, lucha, mis mayores motivos, mis grandes motores por el cual seguir desarrollándome, sus enseñanzas llenas de rectitud, valores, e inmenso amor.

A mis hermanos, Frank, David y Priscila, por el apoyo moral, constante e incondicional.

A mis sobrinos, Alejandra y Maty, que me llenan de ternura.

Br.: Katheryn Elizabeth Picho Hurtado

AGRADECIMIENTO

A mi Alma Mater y segundo hogar, la Universidad Norbert Wiener, por estos años de aprendizaje y formación profesional.

A mi asesora, la Dra. Juana Elvira Chávez Flores, por su admirable entrega en lo personal y profesional, un especial agradecimiento y estima por hacer posible la realización de inicio a fin del presente trabajo, mencionar que es una gran persona apasionada por la carrera profesional, mis mejores deseos.

Un agradecimiento especial a los miembros del jurado presidido por el Dr. Enrique León Soria, Mg. Justil Guerrero Hugo Jesús, Q.F Salazar Tuanama Rita Haydee, por su apoyo y paciencia.

A mi familia como base fundamental y ejemplo a seguir; a pesar de las circunstancias, decirles que son mi fuerza y razón para seguir luchando en todo aspecto de mi vida.

A los docentes, por compartir enseñanzas, experiencias y conocimientos en mi carrera profesional y personal.

A mis amigos, por los grandes momentos que compartimos, por permitirme ser parte de sus vidas.

Br.: Katheryn Elizabeth Picho Hurtado.

ÍNDICE GENERAL

Resumen

Abstract

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1.Planteamiento del Problema.....	1
1.2. Formulación del Problema.....	2
1.3. Justificación.	2
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. Objetivo general.	3
1.4.2. Objetivos específicos.	3
1.5. Variables.....	3
1.5.1. Variable independiente.....	3
1.5.2. Variable dependiente.	3
1.6. Hipótesis.....	3
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1.Antecedentes de la investigación.	4
2.1.1. Antecedentes Internacionales.	4
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	6
2.2.Teorías generales.....	8
2.2.1. Ubicación sistemática de la especie vegetal <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	8
2.2.2. Familia Elaeocarpaceae.....	9
2.2.2.1. Especies vegetales de la familia Elaeocarpaceae.	9
2.2.2.2. Propiedades farmacológicas y composición química de la familia Elaeocarpaceae.....	9
2.2.3. Estudio botánico de la especie <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	10
2.2.3.1. Nombre común.	10
2.2.3.2. Descripción Botánica.	11
2.2.3.3. Distribución geográfica.	11
2.2.3.4. Usos y propiedades medicinales.	11

2.2.4. Los flavonoides.	13
2.2.4.1. Características generales de flavonoides.	13
2.2.4.1.1. Ruta del Ácido Shikímico.....	19
2.2.4.2. Clasificación de flavonoides.....	19
2.2.4.3. Actividad farmacológica de flavonoides	21
2.2.5. Estudios de la actividad analgésica.....	23
2.2.5.1. Acción analgésica.....	23
2.2.5.2. Dolor.	23
2.2.5.3. Fisiopatología del dolor.....	24
2.2.5.4. Clasificación del dolor.....	25
2.2.6. La escala analgésica de la OMS.....	27
2.2.7. Analgésicos.....	30
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
3.1. Tipo de investigación.....	33
3.2. Población y muestra.	33
3.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	33
3.4. Muestras, materiales, solventes, reactivos y otros.	33
3.5. Metodología de la preparación y evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	36
3.6. Lugar de desarrollo y ejecución del experimento.....	37
3.7. Evaluación Farmacognóstica.....	37
3.7.1. Recolección del material botánico.....	37
3.7.2. Procesamiento del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea</i> <i>stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	37
3.8. Ensayos preliminares.	37
3.8.1 Prueba de solubilidad de la especie vegetal <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	37
3.8.2 Análisis cualitativo fitoquímico de la especie <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	38

3.8.3 Pasos para la identificación de metabolitos presentes en la especie vegetal de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".....	39
3.8.3.1. Detección de alcaloides.....	39
3.8.3.2. Detección de componentes fenólicos y taninos.....	40
3.8.3.3. Detección de fitoesteroles.....	41
3.9. Procedimiento de la actividad analgésica.....	44
3.10. Estudio farmacológicos- biológicos.....	45
3.10.1. Animales de experimentación.....	45
3.10.2. Preparación y elaboración de las dosis del extracto etanólico <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".....	45
3.10.3. Preparación de los estándares Q. P.....	45
3.10.4. Prueba de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 %.....	45
3.10.5. Efecto sobre los estiramientos inducidos por ácido acético 0,8 %.....	47
IV. RESULTADOS	49
4.1. Pruebas fitoquímicas preliminares.....	49
4.1.1. Prueba de solubilidad de la especie de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".....	49
4.1.2. Análisis cualitativo fitoquímico de la especie vegetal de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".....	51
4.1.3. Análisis estadístico del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" (SPSS versión 23,00).....	53
V. DISCUSIÓN	64
VI. CONCLUSIONES	68
VII. RECOMENDACIONES	69
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
IX. ANEXOS	77

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Árbol familiar de los compuestos fenólicos.....	14
Figura 2. Esqueleto común de los flavonoides.....	15
Figura 3. Estructura básica de los flavonoides “propriadmente dichos”.....	16
Figura 4. Estructura básica de los compuestos relacionados a los flavonoides.....	17
Figura 5. Origen biosintético de los flavonoides.....	18
Figura 6. Fases del dolor.	25
Figura 7. Escala analgésica de la OMS modificada.....	29
Figura 8. Fórmula química del Paracetamol.	31
Figura 9. Fórmula química de Clorhidrato de Tramadol.....	32
Figura 10. Preparación y evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	36
Figura 11. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	42
Figura 12. Prueba de análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	43
Figura 13. Procedimiento experimental de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	44
Figura 14. Actividad analgésica, contorsiones abdominales.....	48
Figura 15. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	50
Figura 16. Análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	52
Figura 17. Representación de las medias del número promedio de contorsiones abdominales en ratones tratados con extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” por género.....	55

Figura 18.	Diagrama de cajas del número de contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	58
Figura 19.	Porcentaje de inhibición (%) de las contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	63
Figura 20.	Proceso de maceración etanólica de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	82
Figura 21.	Filtración de la maceración de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	82
Figura 22.	Extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	82
Figura 23.	Evaporación del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en la estufa a 40° C.	82
Figura 24.	Extracto seco de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	83
Figura 25.	Preparación de los tratamientos con el extracto seco de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.....	83
Figura 26.	Aclimatación y separación al azar de los ratones <i>Mus musculus</i> cepa Balb/C53/CNPB en los diferentes grupos investigados.	83
Figura 27.	Manejo del material biológico para inducción de los tratamientos con ratones.....	84
Figura 28.	Modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético al 0,8 %, por vía intraperitoneal (I.P.).	84
Figura 29.	Administración de los tratamientos por vía oral en ratones <i>Mus musculus</i> cepa Balb/C53/CNPB.....	84
Figura 30.	Observación y cuantificación de las contorsiones abdominales en ratones <i>Mus musculus</i> de los grupos experimentales.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Información etnofarmacológica de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".12
Tabla 2.	Efectos farmacológicos de algunos flavonoides.22
Tabla 3.	Distribución del material biológico para las pruebas de experimentación.....46
Tabla 4.	Solubilidad del extracto etanólico de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".49
Tabla 5.	Perfil cualitativo fitoquímico de la especie de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur".51
Tabla 6.	Estadísticas descriptivas del número promedio de contorsiones abdominales en ratones tratados con extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" por género.....53
Tabla 7.	Estadísticas descriptivas del número promedio de contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" en ratones.....56
Tabla 8.	Prueba de homogeneidad de varianzas de contorsiones abdominales de todos los grupos experimentales.59
Tabla 9.	Número de contorsiones abdominales validada por la prueba de Kruskal-Wallis.59
Tabla 10.	Comparaciones Múltiples Games-Howell del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" en ratones y los tratamientos.60
Tabla 11.	Porcentaje de inhibición (%) de las contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" en ratones.62

ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Descripción taxonómica de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	77
Anexo 2. Matriz de consistencia de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	78
Anexo 3. Matriz de Operacionalización de variables de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	80
Anexo 4. Instrumento de prueba para la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	81
Anexo 5. Procedimientos de la extracción y prueba para la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	83

ABREVIATURAS

OMS:	Organización mundial de la salud.
AINES:	Antiinflamatorios no esteroideos.
COX-1:	Ciclooxigenasa 1.
PG:	Prostaglandinas.
I.P:	Intraperitoneal.
I.A.S.P:	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor.
SNC:	Sistema Nervioso Central.
Q.P:	Químicamente puro.
EVA:	Escala visual analógica.
H ₂ O _d :	Agua destilada.
EtOH:	Etanol.
MeOH:	Metanol.
BuOH:	n-butanol.
EtOAC:	Acetato de etilo.
CHCl ₃ :	Cloroformo.
Hex:	n-hexano.
Me ₂ CO:	Acetona.
BZ:	Benceno.
Et ₂ O:	Éter etílico.
EP:	Éter de petróleo.
msnm:	Metros sobre el nivel del mar.
Ct:	Contorsiones del grupo tratado.
Cc:	Contorsiones del grupo control.

RESUMEN

Se realizó la investigación de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", ubicada en el distrito de Tamburco, provincia de Abancay, departamento de Apurímac, a 3,100 m.s.n.m. utilizada por los pobladores como medicina tradicional para el tratamiento de escorbuto, cicatrizante, gastritis, reumatismo, purgante drástico y analgésico. **Objetivo:** Comprobar la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en ratones. **Métodos:** Se empleó el método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 %, se distribuyeron 49 ratones albinos de la especie *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB de ambos sexos, distribuidos al azar en 7 grupos, se usó extractos etanólicos a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, y los estándares (Paracetamol Q.P. 300 mg/kg y el Clorhidrato de Tramadol Q.P. 40 mg/kg); administrados por vía oral, 30 minutos después de haber administrado los tratamientos se administró por vía intraperitoneal el ácido acético 0,8 %, al grupo control solo se le administró ácido acético, inmediatamente cada grupo fueron observados por 20 minutos. **Resultados:** Todos los grupos lograron disminuir significativamente (p valor=0,000), obteniendo efectos analgésicos diferenciados, el efecto máximo se alcanzó con el extracto de 200 mg/kg con un 70 % de inhibición, superando al Paracetamol (55 %). **Conclusiones:** Se concluye que el extracto etanólico de la especie vegetal de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", tiene efecto analgésico.

Palabras clave: *Vallea stipularis* L.f., actividad analgésica, raíz, contorsiones abdominales.

ABSTRACT

The investigation of the plant species *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", located in the district of Tamburco, province of Abancay, department of Apurímac, at 3,100 m.s.n.m. used by the inhabitants as traditional medicine for the treatment of scurvy, cicatrizant, gastritis, rheumatism, drastic purgative and analgesic.

Objective: To verify the analgesic activity of the ethanolic extract of the root *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" in mice. **Methods:** The method of abdominal contortions induced by 0,8 % acetic acid was used, 49 albino mice of the species *Mus musculus* strain Balb/C53/CNPB of both sexes were distributed, randomized in 7 groups, ethanolic extracts were used doses of 50, 100 and 200 mg/kg, and the standards (Paracetamol QP 300 mg/kg and Tramadol Hydrochloride QP 40 mg/kg); administered orally, 30 minutes after administering the treatments, 0,8 % acetic acid was administered intraperitoneally, only acetic acid was administered to the control group, immediately each group was observed for 20 minutes. **Results:** All the groups managed to decrease significantly (p value=0,000), obtaining differentiated analgesic effects; the maximum effect was reached with the extract of 200 mg/kg with 70 % inhibition, surpassing Paracetamol (55 %). **Conclusions:** It is concluded that the ethanolic extract of the plant species of the root of *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", has an analgesic effect.

Key words: *Vallea stipularis* L.f., analgesic activity, root, abdominal contortions.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del Problema.

El presente trabajo de investigación pretende demostrar el uso tradicional de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", que presenta actividad analgésica. Así mismo, buscar un producto natural que disminuya las complicaciones del dolor y el empleo como alternativa para terapias de dolor de ciertas enfermedades (Dolores oncológicos en etapas iniciales, dolores de la artritis y otras enfermedades asociadas, etc.), formando así, una base de atención de salud.¹En la actualidad existen fármacos que son utilizados como analgésicos, presentando múltiples efectos adversos; por ello, la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. podría ofrecer alternativas para el tratamiento del dolor con menores efectos adversos.

Las investigaciones en plantas medicinales son importantes para el estudio en farmacología y desarrollo de los medicamentos, no solo como agentes terapéuticos, sino también, como base para la síntesis del medicamento o como modelos para compuestos farmacológicamente activos.²El uso de las plantas y la medicina tradicional constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo, ya que son parte de la cultura, historia y creencias.³

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha estimado un 80 % para la utilización de la medicina tradicional a nivel mundial, para la atención primaria en salud, y gran parte de los tratamientos tradicionales aplican el uso de extractos de plantas y sus principios activos.⁴Así mismo, promueve 3 pilares: Las acciones farmacológicas, la seguridad y la calidad; quienes garanticen el uso racional de las plantas y de la medicina tradicional.⁵

Este es el caso la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", proveniente de la región andina empleada por los pobladores como medicina tradicional en la comunidad de Tamburco-Abancay-Apurímac, utilizado como tratamiento de escorbuto, cicatrizante, gastritis, reumatismo, purgante drástico y analgésico.⁶

La especie vegetal *Vallea stipularis* L.f "Chuillur", presenta metabolitos secundarios que demuestran contener actividad terapéutica (Compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos, etc.), este estudio permitirá determinar la actividad analgésica en la raíz de la planta ya mencionada.⁶

1.2. Formulación del Problema.

¿Tendrá actividad analgésica el extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en ratones?

1.3. Justificación.

Los analgésicos son fármacos que van a disminuir el umbral del dolor a nivel del sistema nervioso central (SNC) y periférico, algunos analgésicos (Por ejemplo opioides) son utilizados en dolores potentes y producen de manera frecuente: Cefalea, vértigo, mareos, nerviosismo, insomnio, depresión respiratoria, etc.⁷Con estos antecedentes es necesario investigar y desarrollar nuevas sustancias de origen natural con actividad analgésica, que puedan ser más seguras y que podrían presentar menos frecuencia de efectos adversos y más leves; por ello, la especie vegetal de la raíz de *Vallea stipularis* L.f."Chuillur" se justifica de la siguiente manera:

1. Contribuir como producto natural en tratamientos alternativos de terapias de dolor; ya sea, en intervenciones quirúrgicas, tratamientos de dolor (Dolores oncológicos en etapas iniciales, dolores de la artritis y otras enfermedades asociadas, etc.) con menor efectos adversos.
2. Podría disminuir los costos en los tratamientos tradicionales para el dolor, debido a que la planta *Vallea stipularis* L.f. cuenta con fácil accesibilidad en la comunidad de Tamburco-Abancay-Apurímac.
3. Mejoraría la calidad de terapias del dolor y las intervenciones como analgésicos, permitiendo la inclusión de personas de escasos recursos, al promover la adherencia a dicho tratamiento.

4. Permitiría incentivar la realización y continuación de investigaciones a estudiantes de la facultad de farmacia y bioquímica, que promuevan a la planta *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, no solo como una nueva alternativa analgésica, sino al reconocimiento de otros metabolitos secundarios así como otras sustancias que se extraen de plantas.

1.4. Objetivos.

1.4.1. Objetivo general.

Comprobar la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

1.4.2. Objetivos específicos:

1. Identificar por análisis cualitativo fitoquímico la presencia de metabolitos en el extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.
2. Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f “Chuillur” en ratones.

1.5. Variables.

1.5.1. Variable independiente.

El extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

Dimensiones:

- Dosis del extracto de la especie vegetal.
- Peso de los ratones albinos.
- Sexo de los ratones albinos.

1.5.2. Variable dependiente.

Actividad analgésica.

1.6. Hipótesis.

El extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” presenta actividad analgésica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación.

2.1.1. Antecedentes Internacionales.

Muñoz J, *et al.* En el año 2016⁸, desarrollaron la investigación “**Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f de la provincia de Loja**”.

Objetivos: Identificar los metabolitos secundarios de la planta *Vallea stipularis* L.f.

Métodos: El estudio se realizó con las hojas de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f., se utilizaron solventes entre ellos: Metanol-agua, cloroformo y acetato; los ensayos del extracto fueron realizados con acetato, se trabajo con la cromatografía en columna y cromatografía de capa fina para realizar los estudios y definir los resultados de la muestra con la fracción JM-20/41-16; a dicha fracción se le realizó estudios de NMR (¹H-¹³C).

Resultados: El extracto de la planta *Vallea stipularis* L.f. presentó mayor rendimiento con el acetato con un 31,49 %, seguido del extracto de metanol-agua con un rendimiento de 26,92 % y finalmente el cloroformo con un 4,64 %.

Conclusiones: Por medio de las técnicas espectrales C-NMRy H-NMR, se determinaron dos flavonoides glicosilados: Astragalina e Isoquertricina.

Duménigo A, *et al.* En el año 2014⁹, estudiaron la “**Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux**”.

Objetivos: Evaluar la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto en diclorometano del alga roja *Galaxaura rugosa*, así como la composición fitoquímica.

Métodos: Para la identificación fitoquímica del alga roja *Galaxaura rugosa* se utilizó el método de Chabra; el cual permitirá extraer solventes polares y la identificación de metabolitos en ensayos de coloración y

precipitación. La muestra se preparó en la extracción Soxhlet con diclorometano a 40° C. Se estudio el modelo de edema de la oreja inducido por aceite de croton en ratones machos OF-1 para la identificación de la actividad antiinflamatoria con dosis de $10 \cdot 10^{-3}$; 0,125; 0,25; 0,5; 1 y 2 mg/oreja. La actividad analgésica fue evaluada con el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético al 0,8 % por vía intraperitoneal (I.P.), a dosis de 3; 6; 12,5; 25 y 100 mg/kg.

Resultados: El extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* presentó en su identificación fitoquímica compuestos grasos, lactónicos, triterpénicos y/o esteroidales y carbohidratos. En la prueba de la actividad antiinflamatoria la dosis del extracto de 0,125 mg/oreja demostró ser superior en un 40 %. En la prueba de contorsiones la dosis de 6 mg/kg demostró reducir un 75 % las contorsiones.

Conclusiones: El extracto en diclorometano del alga roja *Galaxaura rugosa* demostró la presencia de compuestos que demuestran una elevada eficacia en la actividad antiinflamatoria y analgésica.

Rojas A, *et al.* En el año 2015¹⁰. En su trabajo científico “**Determinación del efecto analgésico del extracto hexánico de flores de *Eupatorium arsenei* en un modelo de dolor agudo en rata**”.

Objetivos: Determinar el efecto analgésico del extracto de flores de *Eupatorium arsenei*.

Métodos: Se empleó el modelo térmico de dolor agudo en ratas hembras Wister para determinar la actividad analgésica, este modelo es denominado sacudida de cola, la dosis administrada del extracto fue de 200 mg/kg (n=8), siendo administrada al grupo control y diluida el extracto en aceite de sésamo por vía intraperitoneal (I.P). Para el grupo control positivo se empleó Meloxicam a dosis de 5 mg/kg (n=8), y el grupo control (n=9) con 0,10 mL de solución salina isotónica, estos fueron administrados por vía I.P.

Resultados: Para la obtención de la naturaleza y abundancia de los componentes del extracto hexánico de flores de *Eupatorium arsenei*, se realizaron las pruebas con un espectro de RMN (Resonancia Magnética Nuclear), con ello se efectuaron los resultados del efecto analgésico ya

que podrían deberse a los abundantes derivados de cromenos metoxilados y su posible interacción con la enzima COX2.

Conclusiones: El extracto hexánico de flores de *Eupatorium arsenei* demostró la presencia de actividad analgésica.

2.1.2. Antecedentes Nacionales.

Ortiz M. En el año 2016¹¹, desarrollo la tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico **“Actividad analgésica del extracto etanólico del fruto *Vallea stipularis* L. f. “Chuillur” en ratones”**.

Objetivos: Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico del fruto de *Vallea stipularis* L.f.

Métodos: Se empleó el método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 % (Koster, *et al.*), se utilizó 56 ratones albinos de la especie *Mus musculus* y de cepa Balb/C53/CNPB de ambos sexos, en 7 grupos de 8 cada uno, las dosis de los extractos etanólicos fueron de 50, 100 y 200 mg/kg, se utilizaron los estándares Q.P, Paracetamol 300 mg/kg y el Clorhidrato de Tramadol 40 mg/kg administrados por vía oral, 30 minutos después se administró por vía intraperitoneal (I.P) el ácido acético 0,8 % a una dosis de 0,1 mL/10 g, el grupo sin tratamiento recibió agua destilada y el grupo control se le administró ácido acético al 0,8 %; luego fueron observados las contorsiones por 20 minutos.

Resultados: Se obtuvo significativamente presencia de efecto analgésico de todas las dosis tratadas, la dosis de 200 mg/kg del extracto seco alcanzó el máximo efecto en un 70 % de inhibición de contorsiones frente al grupo control.

Conclusiones: El extracto del fruto de la planta *Vallea stipularis* L.f. presentó actividad analgésica similares al Paracetamol en un 49,29 %, empleando el método contorsiones abdominales inducidas con ácido acético 0,8 %.

Salazar A, *et al.* En el año 2014¹², estudiaron la investigación **“Acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L.”**.

Objetivos: Evaluar la actividad analgésica y neurofarmacológica de las fracciones de la semilla de *Jatropha curcas* L.

Métodos: Se empleó el método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 1,5 % (Writhing) en ratones, tratados en seis grupos control tales como: Ácido acético, Diclofenaco, Tramadol, agua destilada, Diazepam y cafeína; cuatro grupos experimentales: fracción soluble a 500 mg/kg y fracción no soluble a 250, 500 y 750 mg/kg; y las manifestaciones neurológicas, mediante la prueba de Irwin.

Resultados: Los resultados presentados en la inhibición de las contorsiones dada por las dosis más altas de los grupos experimentales y las manifestaciones neurológicas mostraron presencia y significancia frente a la prueba de Irwin.

Conclusiones: El extracto de la semilla de *Jatropha curcas* L. presentó actividad analgésica con la fracción soluble y la no soluble, así como también las fracciones presentaron efectos tóxicos a nivel del sistema nervioso central.

Chilquillo H, Cervantes R. En el año 2017¹³, desarrolló la investigación “**Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec.vira-vira**”.

Objetivos: Determinar el efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto proveniente de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. vira-vira”.

Métodos: El efecto antiinflamatorio fue evaluado por el método del edema plantar inducido por carragenina en ratas (CMC) al 0,13 %, siendo sometidas a un ayuno de 12 horas en 6 grupos de 6, se utilizó para esta prueba Ibuprofeno 120 mg/kg , Prednisona 1,2 mg/kg y el extracto a dosis de 100, 250 y 500 mg/kg. Para evaluar el efecto analgésico se realizó el ensayo de retirada de cola (Tail Flick) en ratones; se emplearon 5 grupos de estudio; suero fisiológico 0,1 mL/10 g, Tramadol 10 mg/kg y el extracto a dosis de 400, 800 y 1200 mg/kg administrados por vía oral. Para evaluar la actividad antioxidante in vitro,

se realizó mediante la neutralización del radical del DPPH, y para la actividad antioxidante *in vivo* se utilizaron las enzimas SOD y GPx.

Resultados: En la actividad antiinflamatoria la dosis de 500 mg/kg (37,52 %) tuvo mayor eficacia frente al Ibuprofeno (41,16 %) y Prednisona (48,04 %); en la actividad analgésica la dosis de 1,200 y 800 mg/kg fueron comparadas con el Tramadol en un (39,67 %), con resultados de 28,55 y 20,84 % respectivamente; en la actividad antioxidante *in vitro* se obtuvo IC50 de 62,95 µg/mL para el extracto; en la actividad antioxidante *in vivo* la enzimas SOD y GPx disminuyeron significativamente para concentraciones de 100 y 200 mg/kg siendo comparadas con el grupo control; la enzima CAT también demostró disminución aunque no significativamente.

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* demostró efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante en los modelos experimentales.

2.2. Teorías generales.

2.2.1. Ubicación sistemática de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”. (Anexo 1.)

La clasificación y certificación taxonómica se dio a través del Consultor Botánico, identificado por el Biólogo-Botánico Hamilton W. Beltrán S. Según el sistema de Clasificación de Engler & Prantl modificado por Melchior en 1964, se ubica en las siguientes categorías:

División:	Angiospermae
Clase:	Dicotyledoneae
Sub clase:	Arquichlamydeae
Orden:	Malvales
Familia:	Elaeocarpaceae
Género:	<i>Vallea</i>
Especie:	<i>Vallea stipularis</i> L.f
Nombre vulgar:	“Chuillur”

2.2.2. Familia Elaeocarpaceae.

La familia Elaeocarpaceae presenta 15 géneros y aproximadamente 500 especies, distribuidos en regiones tropicales y subtropicales, con excepción de África y Europa. En la región neotropical la familia Elaeocarpaceae está identificada por los géneros *Vallea* Muttis L.f, *Crinodendron* Molina (Frecuentes en América del Sur) y *Sloanea* L.¹⁴El género *Sloanea* cuenta con 150 especies los cuales se encuentran en el Nuevo y Viejo Mundo. En la región neotropical, el género se distribuye desde México hasta el sur de Brasil y cuenta con cerca de 70 especies. La especie *Sloanea* es un género monofilético y está familiarizado con la especie *Vallea* y *Aristolelia*.¹⁵

2.2.2.1. Especies vegetales de la familia Elaeocarpaceae.

- *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” (Perú).⁶
- *Aristolelia chilensis* (Mol) Stutz, “maqui” (Chile y Argentina).¹⁶
- *Elaeocarpus sphaericus* Leaf (India, Bangladesh, Bhutan, Nepal, Pakistan y Srilanka).^{17,18}
- *Sloanea* L. (Pacífico Colombiano).¹⁴
- *Sloanea lasiocoma* (Argentina).¹⁵
- *Elaeocarpus ganitrus* “rudraksha” (India).^{19,20}

2.2.2.2. Propiedades farmacológicas y composición química de la familia Elaeocarpaceae.

- *Muntingia calabura* L. sp. evidenció la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y terpenos; y en la corteza demostró la presencia de taninos y saponinas. A esta especie vegetal se le atribuye las propiedades: Sedativas, antiespasmódicas, analgésicas, etc.²¹
- *Aristolelia chilensis* (Molina) Stutz en su investigación determinaron la capacidad estabilizadora de radicales libres y antioxidante plasmático. De esta manera se le atribuye las propiedades de neutralizar la acción

de radicales libres por consiguiente retarda los procesos de lipoperoxidación provocado por daño celular.¹⁶

- *Elaeocarpus sphaericus* Leaf, esta especie vegetal presenta en sus hojas y fruto propiedades: Analgésicas, anticonvulsivos, antihipertensivos, hipnóticos, tranquilizantes, termogénicos, sedantes, relajantes del músculo liso y antiinflamatorio. Presenta metabolitos secundarios tales como: Triterpenos, glucósidos, esteroides, alcaloides (*Elaeocarpidine*, *elaecarpine*, *isoelaecarpine*, *epiisoelaecarpiline*, etc.); además encontramos: Indolizina (*Grandisines*), flavonoides (*Quercetina*), taninos (Ácidos gálico y elágico), ácidos grasos (*Palmítico* y *linoleico*), hidratos de carbono, proteínas y cenizas.^{17,18}
- *Elaeocarpus ganitrus* “rudraksha”, esta especie vegetal presenta en su fruto propiedades: Analgésicas, antiinflamatoria, hipoglucémico, antiulcerogénico y antimicrobiana. *Elaeocarpus ganitrus* “rudraksha”, los estudios realizados evidencian la presencia de metabolitos secundarios tales como: Alcaloides (*Isoelaecarpicine*, *isoelaecarpine*, *elaecarpine*), flavonoides (*Quercetina*), taninos, esteroides, triterpenoides, glucósidos cardiacos, etc.^{19,20}

2.2.3. Estudio botánico de la especie *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

2.2.3.1. Nombre común.

El nombre común de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. es “Chuillur”; a esta planta se le conoce también como: Achacapuli, cugur, crosckash, chchicllur, Chuillur (Tamburco), chijllurmay (Cusco), gorgor, pera caspi, yongasil, sacha capuli, olla-olla, tchillurnay, peralillo, rosa; en otros se conocen como: Guisho (Ecuador), capulí (Bolivia);etc.^{22,23}

2.2.3.2. Descripción Botánica.

La especie vegetal *Vallea stipularis* L.f., más conocido como “Chuillur” por los pobladores, se caracteriza por ser un árbol de una altura promedio de 8 a 10 metros, posee tronco cilíndrico y de copa redonda. Definida por hojas en forma acorazonada de color verde amarillento en el haz y verde claro en el envés con peciolo largo y simple, alternos de base truncada, de ápice acuminado y borde entero. La corteza presenta una parte externa fisurada color café, sin secreciones y exudados. Las flores presentan un color rojo, el cáliz y la corola son caducos y pentámeros, el androceo posee un promedio de 32 estambres, el gineceo de un ovario súpero con estilo simple y estilo compuesto. El fruto cuando está madura presenta una cápsula globosa negra, conteniendo 2 a 5 semillas de color blanco.^{6,23,24}

2.2.3.3. Distribución geográfica.

La familia de Elaeocarpaceae se ubica en regiones tropicales y subtropicales con algunas especies en zonas templadas. El género *Vallea*, posee dos especies en hábitat desde Venezuela hasta Bolivia; así como en el Perú tenemos a: *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, se encuentra a una temperatura de 10 - 17° C media anual y se ubica en el distrito de Tamburco, provincia de Abancay, departamento de Apurímac a 3,100 m.s.n.m. En otras zonas como en el Ecuador lo encontramos entre los 2,500 - 3,900 m.s.n.m., en el Perú entre los 2,200 - 3,200 m.s.n.m., y en Colombia de 2,200 - 3,400 m.s.n.m.^{6,23}

2.2.3.4. Usos y propiedades medicinales.

La especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, es una planta utilizada por los pobladores de la región andina para el tratamiento de: Gastritis, reumatismo, escorbuto, cicatrizante, purgante drástico, antiinflamatorio y como analgésico.^{6,23}

Tabla 1. Información etnofarmacológica de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".⁶

PROPIEDADES TERAPÉUTICAS	PARTE UTILIZADA	PREPARACIÓN	ADMINISTRACIÓN
AFECCIONES DEL HÍGADO.	Hojas.	Infusión 10 g/L x 10´.	Tomar 1 taza en ayunas.
ANALGÉSICO Y ANTIINFLAMATORIO.	Hojas y fruto.	Infusión 10 g/L x 10´.	Tomar 1 taza, 3 veces al día.
CICATRIZANTE.	Hojas y fruto.	Cocimiento 10 g/L x 5´.	Lavar la zona afectada 2 - 3 veces por día, en caso del fruto moler las semillas y aplicarse a la herida.
PURGANTE DRÁSTICO.	Fruto.	Infusión 10 g/L x 5´.	Tomar 1 taza en ayunas.
ESCORBUTO.	Hojas.	4 semillas de fruto fresco, triturar hasta obtener un jugo.	Usar un hisopo y aplicarse antes de dormir.
GASTRITIS.	Hojas.	Infusión 10 g/L x 10´.	Tomar 1 taza, 3 veces al día.
PROSTATITIS.	Hojas.	Infusión 10 g/L x 10´.	Tomar 1 taza, 3 veces al día.

2.2.4. Los flavonoides.

Los flavonoides forman parte de la familia de los polifenoles, cuenta con más de 5,000 compuestos estudiados y a su vez identificados; estos se obtienen en la alimentación o en forma de suplementos; ya que el organismo no produce estas sustancias. Los flavonoides están ampliamente presentes en las plantas y dependen de la forma única de combinarse.²⁵

Los flavonoides son sustancias formadas por moléculas pequeñas de bajo peso, cumpliendo roles importantes en la rama farmacológica y ejerciendo actividades bioquímicas; siendo de beneficio al hombre entre otros.²⁶

2.2.4.1. Características generales.

Los flavonoides son compuestos polifenólicos, se identifican por contar con un mismo elemento es su estructura; llamado encadenamiento diaril-propánico, fenilcromano o benzopirano. Esta estructura es del tipo C₆-C₃-C₆; su esqueleto básico C₆ consta de anillos bencénicos (A y B), estos están unidos por una cadena de tres carbonos que forman un tercer anillo heterocíclico llamado pirano o pirona (Anillo C).^{27,28}

La clasificación de los flavonoides se da en las variaciones estructurales, al sufrir modificaciones el esqueleto por: Glicosilación, oxidación, reducción o alquilación; el núcleo genera un escaso número de estructuras básicas de las cuales se derivan la amplia gama de flavonoides entre los que se incluyen: Flavanonas, flavonoles, flavonas, flavanoles, antocianinas, flavanonoles, isoflavonas, chalconas y neoflavonas.²⁸

Dentro de sus características generales de estos compuestos se resalta su solubilidad en agua y etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados.²⁹

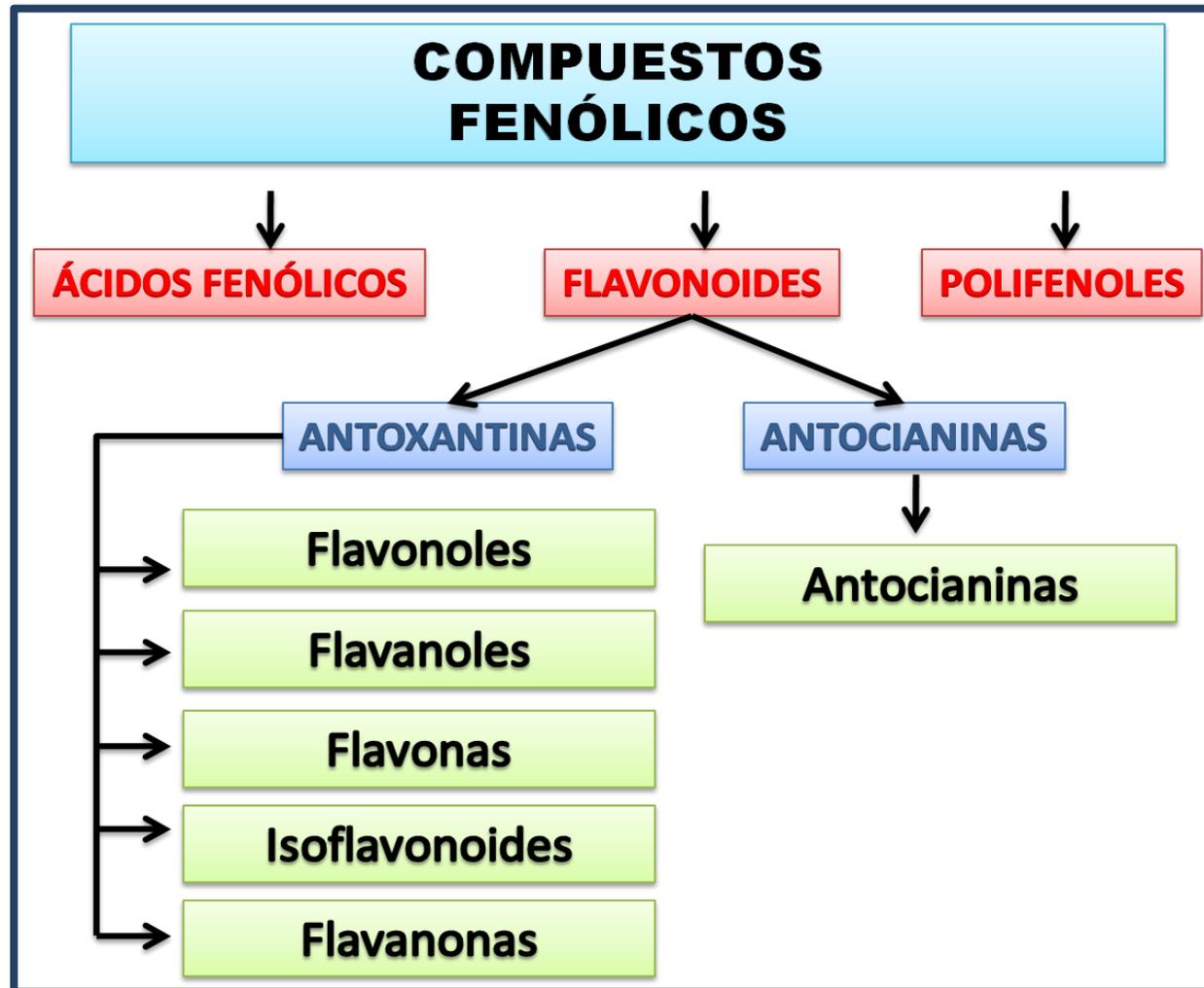


Figura 1. Árbol familiar de los compuestos fenólicos.²⁵

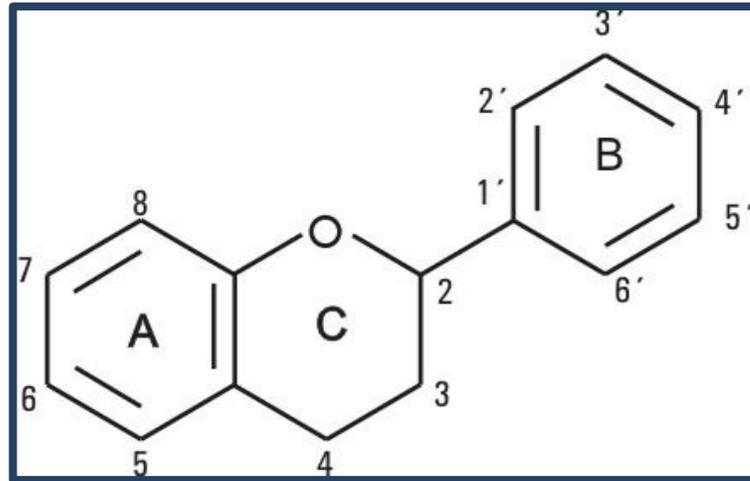


Figura 2. Esqueleto común de los Flavonoides.²⁷

En los flavonoides la presencia o ausencia de un grupo hidroxilo con enlace al C₃, establece la división de dos grupos:

1. Los 3-hidroxi flavonoides representados por: Flavanoles, flavonoles, antocianidinas, taninos condensados y leucoantocianidinas.
2. Los flavonoides no hidroxilados en la posición 3 representados por: Las flavonas, flavanonas, isoflavanos.³⁰

Los flavonoides propiamente dichos caracterizados por poseer un núcleo fenilcromona, subdivididos por la posición del anillo bencénico que lo posee tenemos: La formación de las flavanonas e isoflavanonas por hidrogenación del anillo C y 2-fenilcromonas da lugar a los flavonoles y a los flavanoles (2,3-dihidroflavonoles) por la hidroxilación del carbono 3.³¹

También se encuentran las catequinas, flavan-3-oles, flavan-3,4-dioles, auronas, xantonas, chalconas, antocianos y los neoflavonoides, que son compuestos relacionados a los flavonoides.³¹

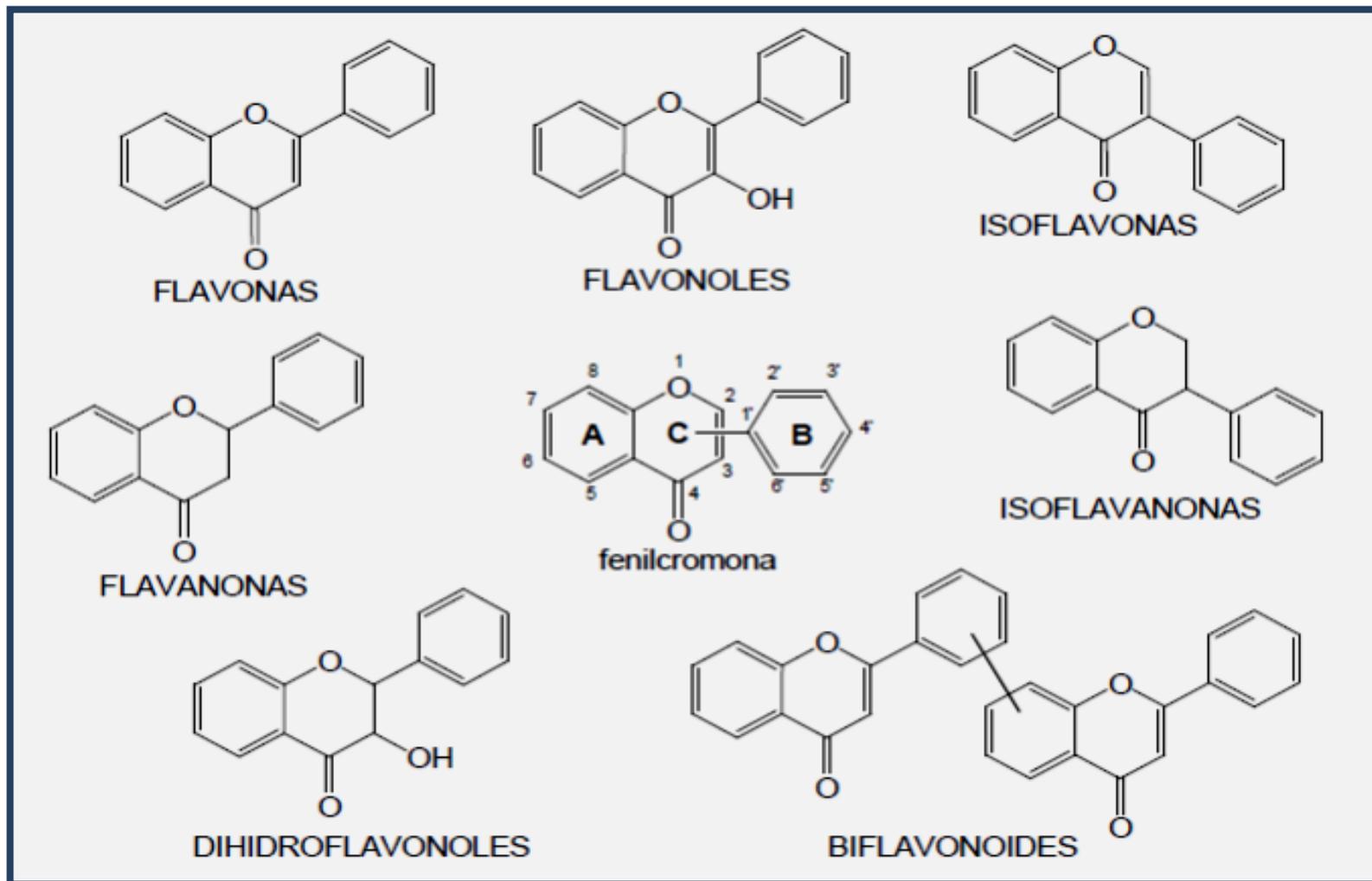


Figura 3. Estructura básica de los flavonoides “propriadamente dichos” ³¹

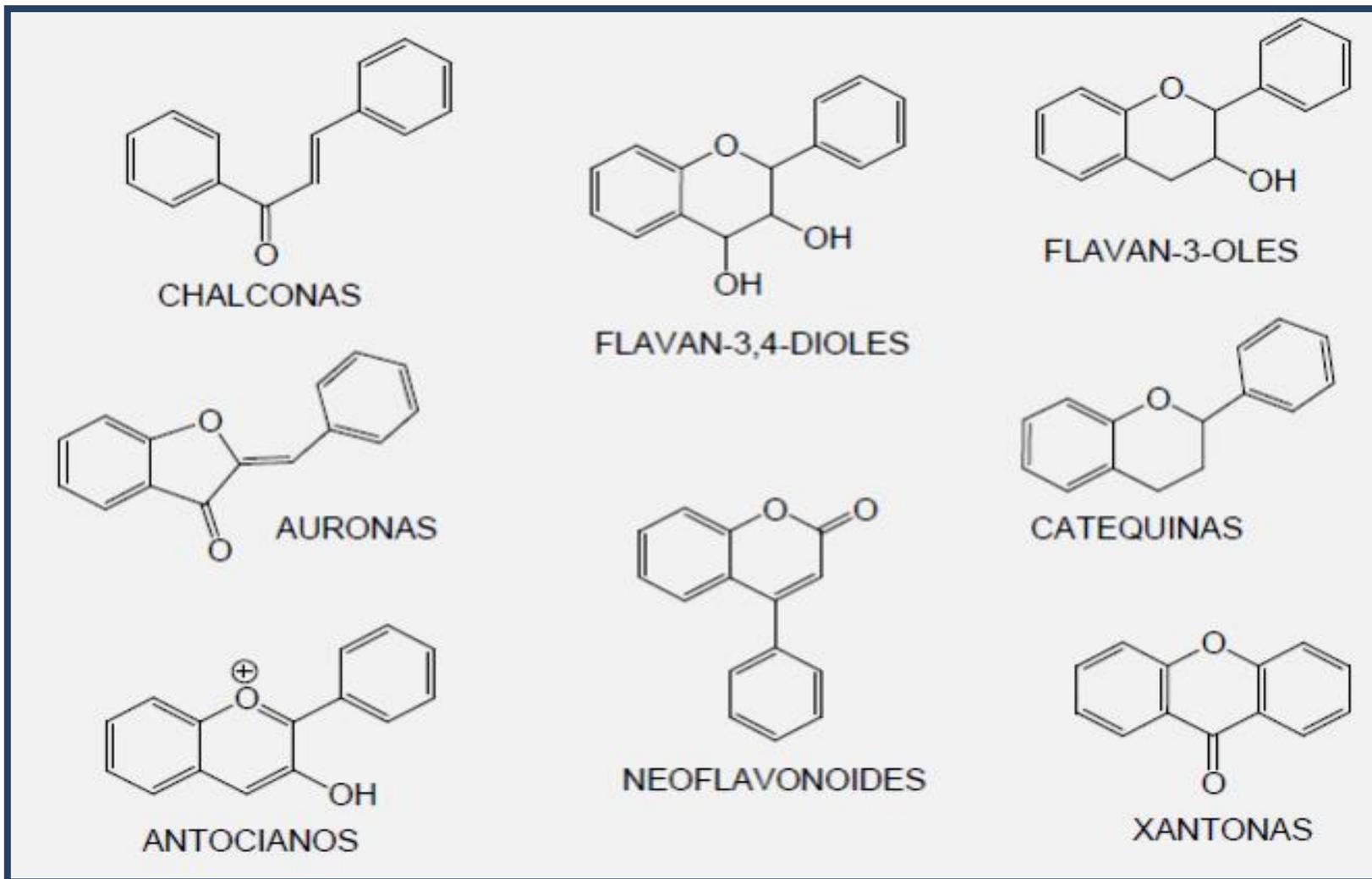


Figura 4. Estructura básica de los compuestos relacionados a los flavonoides.³¹

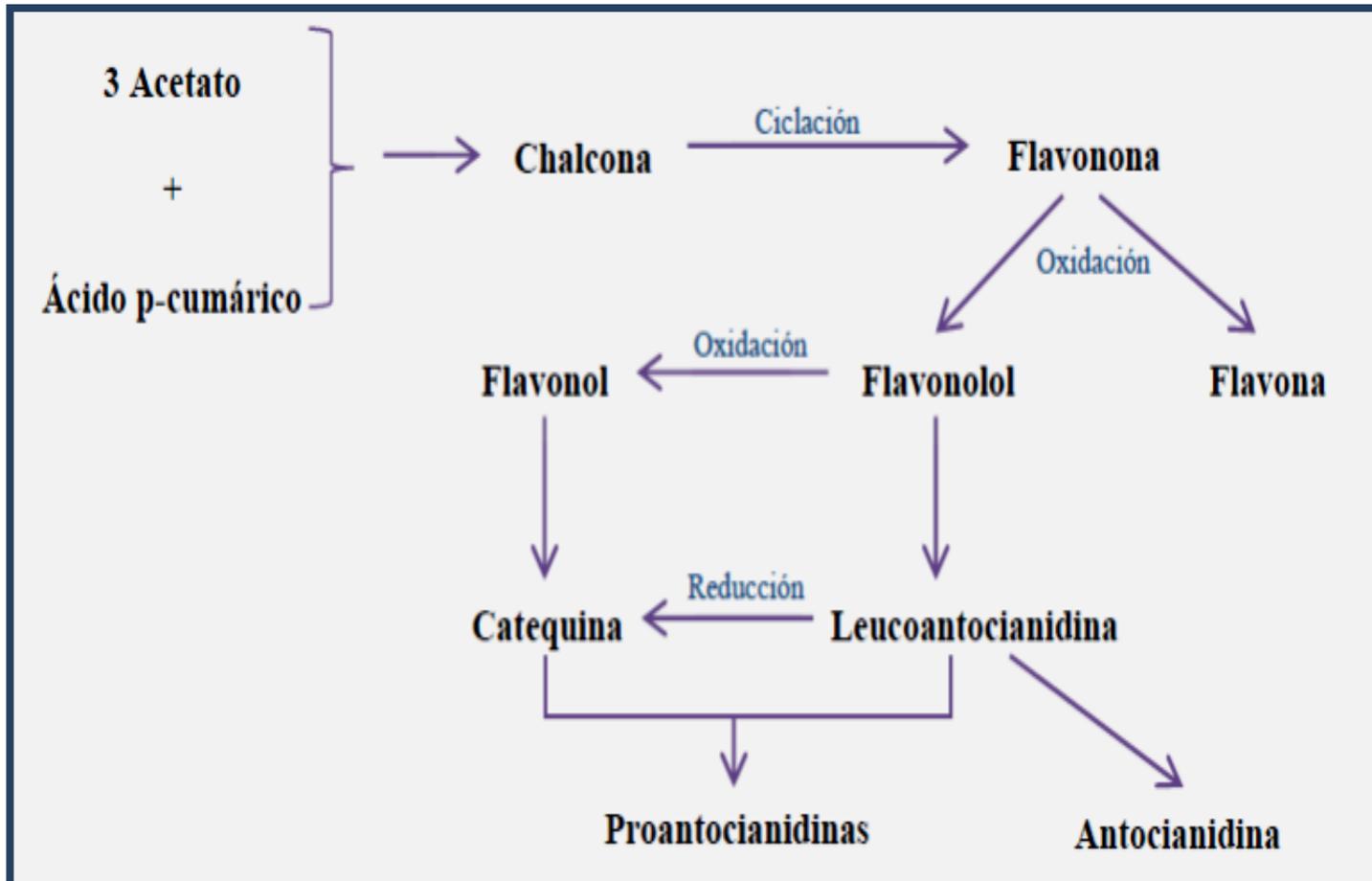


Figura 5. Origen biosintético de los flavonoides.³⁴

2.2.4.1.2. Ruta del Ácido Shikímico.

Los flavonoides proceden del metabolismo de las plantas a través de la ruta del ácido shikímico por reacciones metabólicas producido por productos fotosintéticos; por medio de la síntesis de anillo B y la unidad C₃ de los flavonoides.^{32,33}

Los flavonoides formados biogénicamente, como la chalcona el flavonoide inicialmente formado, de allí se derivan las otras clases por posteriores modificaciones que ocurran en varias etapas, pueden sufrir metilaciones, isoprenilaciones o glicosidaciones de los grupos hidroxilos, metilaciones de grupos o-hidroxilos, dimerizaciones, etc.²⁹

2.2.4.2. Clasificación de flavonoides.

Los flavonoides se encuentran generalmente como mezclas de agliconas y/o glicósidos; es más frecuente el estudio en forma de agliconas. Al año 1990 se conocen alrededor de 3,000 flavonoides, 450 flavonoles, 300 flavonas, 150 isoflavonas, 60 chalconas, 20 auronas, etc.³⁵

Los más destacados dentro del grupo de los flavonoides propiamente dichos gracias a sus aportes terapéuticos y farmacológicos tenemos: Los flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonoides y las antocianinas.³⁶

1. **Flavonoles:** Constan de un doble enlace entre los carbonos C₂-C₃; y en la posición C₃ poseen de un grupo hidroxilo; estos se encuentran en las hojas y flores de las plantas, y son incoloras o amarillas. Entre los flavonoles más conocidos, se encuentran la quercetina, kaempferol y mitricetina, se presentan generalmente en forma de glucósidos; entre las propiedades de los flavonoles tenemos: Aportes a una buena circulación, a nivel cardiovascular, flexibilidad en los vasos sanguíneos, buen funcionamiento cerebral, hidratación de la piel, etc.³⁶

2. **Flavonas:** Constan de un doble enlace entre los carbonos C₂-C₃; están presentes en flores y frutos (La piel de la uva). Sus metabolitos poseen un color amarillo y derivan de los compuestos benzo-γ-pirona. Encontramos algunas plantas con actividad terapéutica: La tila (*Tiliacordata*), la pasiflora (*Passifloraincarnata*), y otros principios activos que contienen hesperidina.^{36,37}
3. **Flavanonas:** Presenta un átomo de oxígeno en C₄, no cuentan con doble enlace entre los carbonos C₂-C₃ del anillo C. Están presentes en cítricos y algunas plantas aromáticas, los más destacados son: El liquiritósido e isoliquiritósido, contienen saponinas, cumarinas, aceite, etc. en el grupo B; estas se encuentran en raíces y rizomas del regaliz (*Glycyrrhiza glabra*), y los citroflavonoides procedentes de cítricos (*Citrus sp.*); tenemos: Hesperósido (Hesperetín-7-hesperidósido), el neohesperidósido (Hesperetín-7-neohesperidósido).^{36,37}
4. **Flavanoles:** Presenta un grupo hidroxilo en C₃, no cuentan con doble enlace entre los carbonos C₂-C₃ del anillo C, están presentes en forma de monómeros (Catequinas) y en estado polimerizado (Proantocianidinas), estos están caracterizados por no estar glicosilados.³⁶
5. **Antocianina:** Se caracterizan por la presencia de un doble enlace conjugado en el anillo C, un grupo cetónico en posición 4 y un grupo hidroxilo en posición 3, están estructuradas en forma glicosilada (Antocianidinas). Son heterósidos (Antocianósidos), estos difieren del ión flavilio (2-fenil benzopirilio) el cual tienen contenidos a aglicones (Antocianidinas o antocianidoles), los podemos encontrar en las flores, frutos, hojas y semillas caracterizados por coloraciones violetas, rojas y azules. Los antocianósidos permiten reducir la fragilidad capilar dando una mayor resistencia, siendo de gran importancia para el sistema vascular, capilar y venoso. Tenemos algunas plantas terapéuticas tales como: Grosellero negro (*Ribes*

nigrum) mirtilo negro (*Vaccinium myrtillus*), provenientes del delphinidol y cianidol.^{36,37}

Para la identificación de flavonoides son importantes las pruebas preliminares, que están basadas en estudios de sus propiedades de solubilidad y de reacciones de color.²⁹ Gracias a los estudios realizados, los flavonoides forman parte de un grupo de interés farmacognóstico, el cual posee una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos terapéuticos sobre diferentes sistemas biológicos.³⁸

2.2.4.3. Actividad farmacológica de flavonoides.

La diversidad y amplia bioactividad de los flavonoides permiten que estos compuestos sean aportes de investigaciones farmacológicas.³⁹

Los estudios e investigaciones *invitro* muestran las propiedades biológicas de los flavonoides como: Antioxidantes, inhiben la peroxidación lipídica, inhiben enzimas, actúan como antimutagénicos, formación de radicales libres, etc. En estudios *in vivo* se manifiesta actividades farmacológicas como: Acción protectora vascular, antitumoral, analgésica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antialérgica, antiaterogénica, etc.³¹

Dentro de los flavonoides tenemos: La hesperidina, la naringenina y la nobiletina; demuestran, por medio de estudios sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, y los diferentes efectos farmacológicos que se producen a nivel del sistema nervioso central (SNC) producidos por sus metabolitos.²⁶

Tabla 2. Efectos farmacológicos de algunos flavonoides.³¹

ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS	COMPUESTOS
ANALGÉSICA:	Quercetina, hesperidina, miricitrina, 5,7-dimetoxi-flavanona- 4'-O-[β-D-apiofuranosil-(1 2)]-D-glucopiranosido, 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-chalcona-4-O-β-D-glucopiranosido.
ANTIALÉRGICA:	Quercetina.
ANTIATEROGÉNICA:	Quercetina.
ANTICANCERÍGENA:	Baicaleína, epigallocatequina, kaenferol-3-O-β-Dglucopiranosido, nobiletina, quercetina, rutina, tangeretina, tricina, woogonina.
ANTIDIABÉTICA:	Quercetina.
ANTIDIARRÉICA:	Apigenina, kaenferol, morina, miricetina, naringenina, quercetina, quercitrina.
ANTIHEPATOTÓXICA:	Gospina, hispidulina, hidroxietilrutósido, kolavirona, quercetina, silimarina.
ANTIINFLAMATORIA:	Apigenina, crisina, gospina, hibrifolina, hipolaetina-8- β -D-glucósido, luteolina, miricetina, nepetina, quercetina, quercitrina, rutina, sidertoflavonona.
ANTIOSTEOPORÓTICA:	Ipriflavona.
ANTIESPASMÓDICA:	Apigenina, crisina, kaenferol, quercetina.
ANTIULCEROSA:	Hipolaetina-8-glucósido, kaenferol, quercetina, rutina, solona, naringina.
PROTECTOR VASCULAR:	Antocianidina, citrina, rutósido.

2.2.5. Estudios de la actividad analgésica.

2.2.5.1. Acción analgésica.

La acción analgésica tiene como finalidad reducir el dolor; ya sea con tratamientos farmacológicos como no farmacológicos que evidencien respuestas terapéuticas, dentro de los grupos contamos con:

1. Fármacos analgésicos opiáceos (Menores, mayores y de acción mixta).
2. Fármacos analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos (AINES).¹³

La clasificación de fármacos mencionados son capaces de aliviar diversos tipos de dolores de caracteres diversos. El efecto antiálgico está dado por las dosis empleadas de ciertos fármacos a distintas terapias según la intensidad dolorosa, los fármacos analgésicos (AINES) frecuentemente son utilizados en el dolor de tipo somáticos, intensidades moderadas e inflamatorias; en cambio con el dolor neuropático aplicada a dolores y molestias de carácter muy diversos tales como: Tendinitis, cefaleas, dolores dentarios, post-operatorios, pos-traumáticos en distintas intensidades, artralgias, dolores oncológicos en etapas iniciales, etc.^{13,40}

2.2.5.2. Dolor.

El dolor constituye un mecanismo de protección resultado de un tejido dañado provocando un estímulo doloroso; siendo considerado subjetivo y de gran complejidad. Según la Internacional Association for the Study of Pain (IASP), el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión hística real o potencial; el dolor presenta un componente nociceptivo (Receptores del dolor), el cual es responsable de la transmisión de estímulos al sistema nervioso central (SNC); estos están presentes ante situaciones de alerta de cualquier escenario para el organismo.^{40,41}

2.2.5.3. Fisiopatología del dolor.

El dolor se inicia con la estimulación de receptores sensitivos (La piel y órganos internos); llamados nociceptores, quienes reciben la información por algún daño al organismo.⁴²

Ante el dolor el organismo produce la liberación de prostaglandinas, bradicidina, tromboxanos, etc. provocando sensibilidad a nivel somático como visceral. El sistema nervioso central (SNC) es encargado de activar fibras aferentes primarias, ante estos mediadores químicos, generando influencias excitatorias e inhibitoras en el asta posterior de la médula espinal; estos se procesan por vías específicas, liberando mediadores como es principalmente por la espinotalámica o la sustancia P. Los estímulos llegan al tálamo y luego a la corteza somatosensitiva llevadas por las neuronas medulares. Existe una modulación encefálica por diferentes áreas cerebrales, tenemos el mesencéfalo y los núcleos del rafe; existen vías inhibitorias que se proyectan hacia la médula, el estímulo persistente causa cambios plásticos en las neuronas nociceptivas que podrían estar implicadas en el mantenimiento del dolor crónico.^{39,40,43}

El mecanismo fisiológico del dolor está conformado por 4 fases:

- 1. Transducción:** Se refiere cuando el estímulo nociceptivo es transformado en un impulso eléctrico. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) actuarían a este nivel reduciendo los cambios fisiológicos tras un proceso inflamatorio.^{44,45}
- 2. Transmisión:** Es la conducción del impulso eléctrico generado en los nociceptores a lo largo de los axones de las neuronas de primer orden, los cuales hacen sinapsis con las neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la medula espinal.^{44,45}
- 3. Modulación:** Es el proceso por el que mecanismos inhibitorios y/o excitativos alteran la transmisión del impulso nervioso. Ocurre en cualquier punto de la ruta de la nocicepción en el que exista

transmisión sináptica; por tanto, ocurre tanto a nivel central (Espinal y supraespinal) como a nivel periférico (Nociceptores).^{44,45}

4. **Percepción:** Se produce en la corteza cerebral donde se definen distintas características sensoriales del estímulo doloroso como inicio, localización, intensidad y tipo de estímulo nociceptivo.^{44,45}

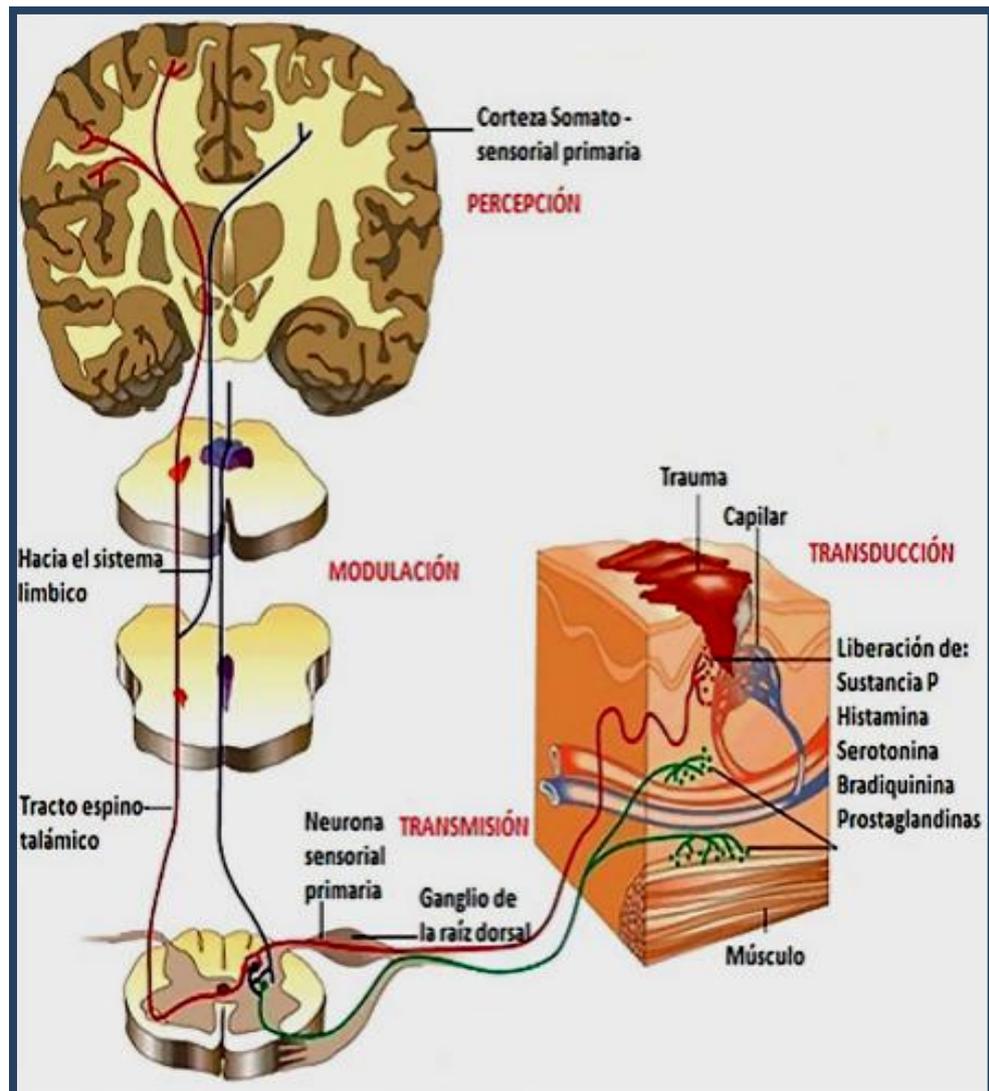


Figura 6. Fases del dolor.⁴⁶

2.2.5.4. Clasificación del dolor.

El dolor se clasifica según su fisiopatología subyacente como: Nociceptivo y neuropático; y según su duración: Agudo y crónico, entre otros tipos de dolor (Oncológico, psicógeno, etc.).

2.2.5.4.1. Según fisiopatología.^{41,47}

Pueden ser dolor nociceptivo y neuropático.

1. **Dolor nociceptivo:** Es la respuesta ante una agresión (Lesión, enfermedad, inflamación, infección ó cirugía) y a su vez el correcto funcionamiento del sistema nervioso central por la activación los nociceptores A-δ y C en respuesta a estímulos de los tejidos corporales. El dolor nociceptivo se caracteriza por la relación que guarda entre la percepción del dolor y la intensidad del estímulo que ha desencadenado; se subdivide en: Dolor somático y visceral.
 - a. **Dolor nociceptivo somático:** Está caracterizado por estar bien localizado, ya que las lesiones son superficiales y se ubican en tejidos corporales como: Piel, músculos, cápsulas articulares y huesos; variables en descripción y experiencia.
 - b. **Dolor nociceptivo visceral:** Se produce por la lesión, distensión, obstrucción o inflamación de órganos torácicos, abdominales o pélvicos; teniendo en cuenta que no todas las vísceras son sensibles al dolor (Cerebro, hígado, pulmón, ovarios).
2. **Dolor neuropático:** Es causado por la lesión o destrucción de nervios localizados en el sistema nervioso central o periférico; también es considerado dolor patológico ya que no tiene ninguna utilidad como mecanismo de alerta o defensa, presenta algunas características comunes en pacientes tales como: Picazón, opresión, punzadas, descargas eléctricas, hormigueo, etc., el dolor neuropático se divide en:

- a. **Dolor neuropático central:** Es el dolor causado por una lesión o enfermedad del sistema nervioso somatosensorial central.
- b. **Dolor neuropático periférico:** Es el dolor causado por una lesión o enfermedad del sistema somatosensorial periférico.

2.2.5.4.2. Según el tiempo de duración.^{41,47}

1. **Dolor agudo:** Es un fenómeno de corta duración, y esta referido a la presencia de una lesión tisular por la activación de mecanismos nociceptivos; acompañados de reflejos protectores, gracias a estos permiten orientar al diagnóstico por su naturaleza, extensión, duración e intensidad.
2. **Dolor crónico nooncológico:** El periodo de duración se extiende de 3 a 6 meses aproximadamente luego de la lesión tisular, siendo la intensidad de leve a intenso; está asociado a una afección crónica, la intensidad y la evolución del dolor crónico son muy variables. Además el dolor crónico tiene una acción protectora y está relacionado a factores tales como: Ambientales, psicológicos y afectivos.⁴³

2.2.6. La escala analgésica de la OMS.

La escala analgésica de la OMS está diseñada para el tratamiento y calidad de vida del paciente con dolor, siendo los tratamientos farmacológicos fundamentales, su utilización es de manera gradual y progresiva a la terapia analgésica dependiente a la respuesta por el paciente.³⁹

Existen normas de uso de la escala analgésica; y ellas son:⁴⁸

1. Se utilizan escalas unidimensionales como la escala verbal numérica ó la escala visual analógica (EVA), para cuantificar la intensidad, manejo y seguimiento del tratamiento del dolor.

2. El tratamiento dependerá de la respuesta y mejoría del paciente; la escala se irá utilizando según se va desarrollando el dolor, si fuera necesario se utilizarán en combinación a los analgésicos más potentes con los del primer escalón.

3. Se debe cumplir la escala analgésica; ya que si fuera necesario subir de escalón para mejorías del tratamiento del dolor se deberán realizar dichos cambios o la combinación de terapias, la OMS recomienda no mezclar los opioides débiles con los potentes. También se debe tener en cuenta la cobertura analgésica del dolor irruptivo (Tipo de dolor asociado a procesos tumorales).

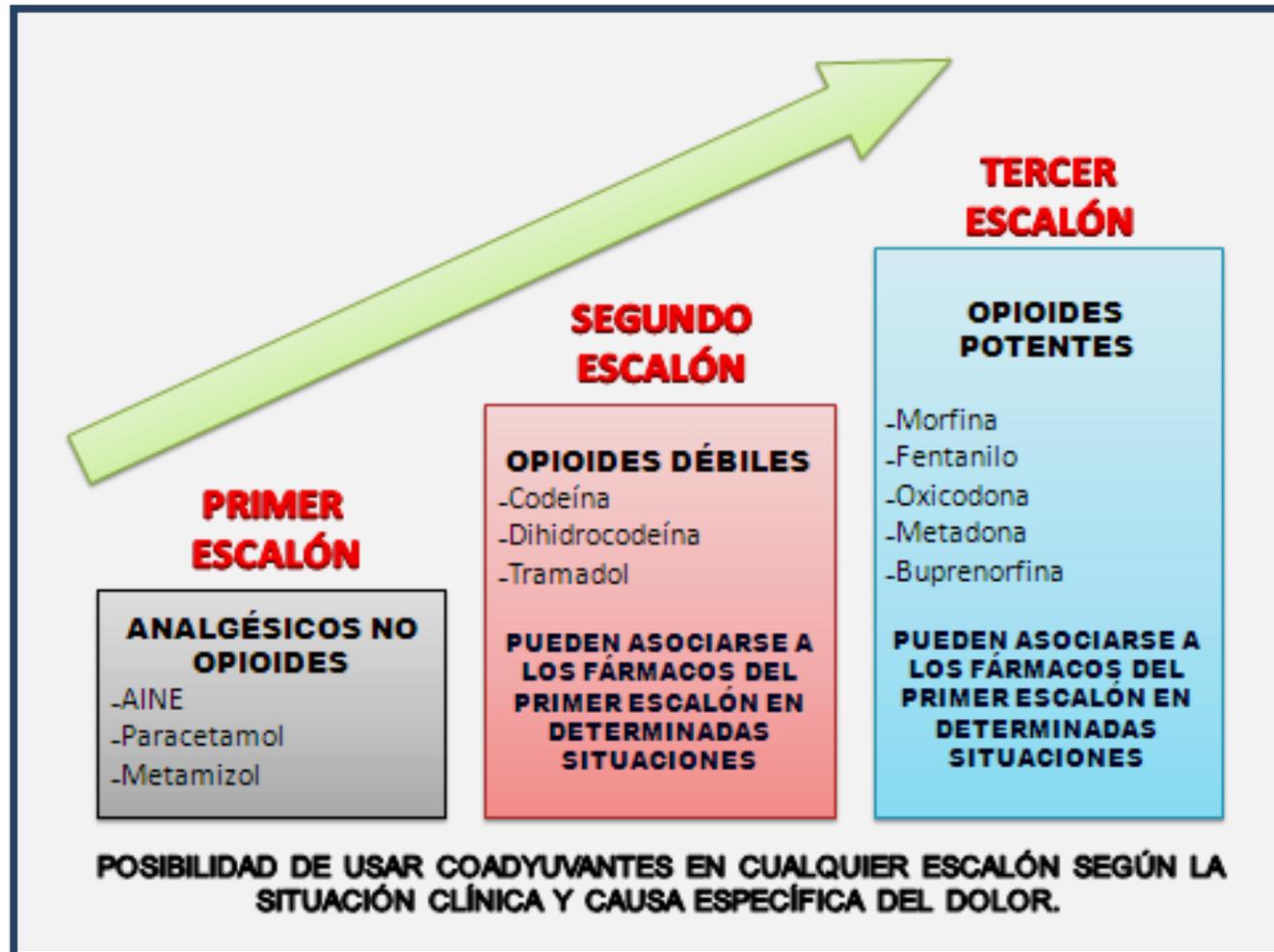


Figura 7. Escala analgésica de la OMS Modificada.⁴⁹

2.2.7. Analgésicos.

2.2.7.1. Analgésicos menores (No opiáceos).

Los analgésicos menores o los no opiáceos son aquellos con menor capacidad analgésica, al mismo tiempo son los más seguros si se utilizan solos o combinados con AINES para tratar tipo de dolores moderados.⁴³

Tienen un techo analgésico, este término refiere a que por encima de la dosis máxima no tienen mayor eficacia analgésica está limitada por los efectos adversos. Entre ellos podemos mencionar al Paracetamol, AINES, etc., estos son administrados por vía oral, no suelen ser adictivos sus efectos adversos no son potencialmente graves entre ellos tenemos: Nefropatía por analgésicos, asma, hipersensibilidad, intoxicaciones, etc.⁴⁰

El mecanismo de acción en común es la inhibición de la enzima ciclooxigenasa, en estos intervienen la formación de prostaglandinas, leucotrienos, etc. entre otros; todos estos derivan a partir del ácido araquidónico. La inactivación de estas enzimas bloquea la sensibilización y activación de fibras nerviosas periféricas, disminuyendo el número de impulsos hacia el sistema nervioso central (SNC).^{50,51}

- **Paracetamol (Acetaminofén).**

El Paracetamol es el analgésico más utilizado en el mundo, también conocido como acetaminofén, está indicado para dolor leve-moderado (Dolor de cabeza, dental, muscular, estados febriles, etc.).⁴⁰

El Paracetamol actúa a nivel del sistema nervioso central (SNC), aumentando el umbral del dolor inhibiendo la síntesis de prostaglandinas; por consiguiente, el bloqueo de las ciclooxigenasas (COX-3), y en menor grado bloqueando el impulso doloroso a nivel periférico. El Paracetamol estimula la actividad de las vías

serotoninérgicas descendentes que bloquean la transmisión de las señales nociceptivas a la médula espinal que provienen de los tejidos periféricos; en ensayos experimentales, demostraron que los antagonistas de distintos receptores serotoninérgicos son capaces de anular el efecto antinociceptivo del Paracetamol.⁵²

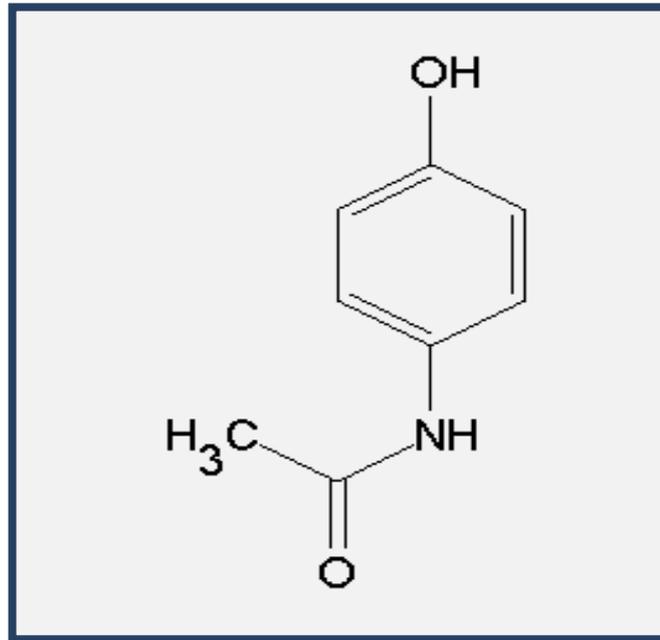


Figura 8. Fórmula química del paracetamol.⁵³

2.2.7.2. Analgésicos opiáceos.

Los analgésicos opiáceos se utilizan para dolores intensos o crónicos, como son los oncológicos; estos producen analgesia mediante la unión a receptores específicos del sistema nervioso central (SNC) y también del periférico.^{40,43}

De forma periférica la interacción de las neuronas realizan sinapsis dando como resultado la disminución del estímulo doloroso; el SNC actúa interfiriendo la percepción del estímulo nociceptivo y evitando la afectividad asociada a los procesos y estados de dolor; y de forma eferente inhiben la liberación de neurotransmisores. El fármaco opioide se une a estos receptores y deprime la transmisión del

estímulo porque reduce la excitabilidad de la neurona y la cantidad de neurotransmisor liberado.⁵⁴

- **Clorhidrato de Tramadol.**

El Clorhidrato de Tramadol está indicado para el dolor agudo o crónico, de intensidad moderada a severa, el Tramadol está considerado como un analgésico de acción central; siendo un agonista puro, no selectivo sobre los receptores opioides μ , δ , κ , con mayor afinidad por los receptores μ . Otros mecanismos que contribuyen a su efecto analgésico son la inhibición de la recaptación neuronal de noradrenalina así como la intensificación de la liberación de serotonina. El Tramadol se absorbe rápida y casi totalmente después de la administración oral a ello se debe su biodisponibilidad alta y está comprendida entre 70 - 90 %.^{54, 55}

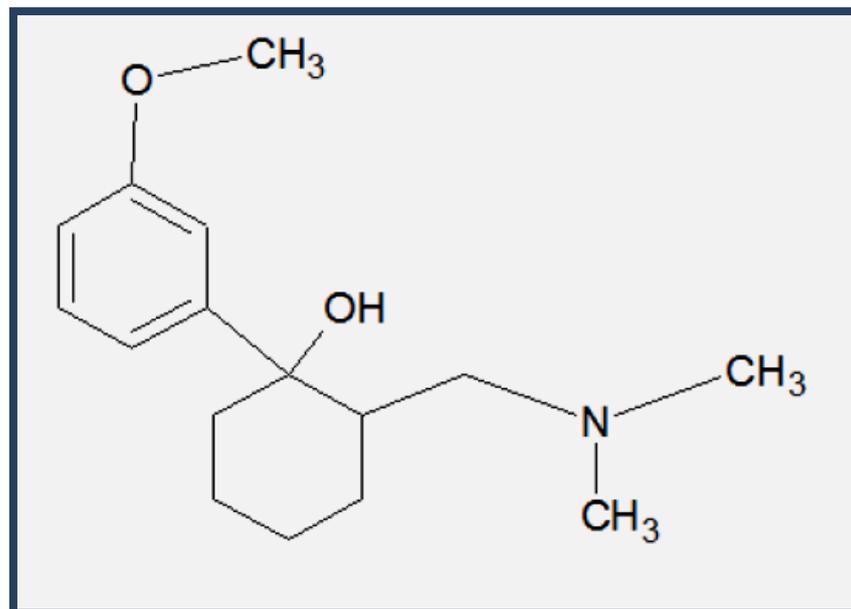


Figura 9. Fórmula química de clorhidrato de tramadol.⁵³

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación.

El presente trabajo de investigación pertenece a un tipo de estudio experimental, prospectivo, y comparativo.

3.2. Población y muestra.

3.2.1 Población.

La población de estudio está conformada por ratones albinos especie *Mus musculus* y cepa Balb/C53/CNPB.

3.2.2 Muestra.

Se utilizó 49 ratones albinos especie *Mus musculus* y de cepa Balb/C53/CNPB de ambos sexos, con peso corporal de 30 - 40 g.

3.3. Criterios de inclusión y exclusión.

3.3.1 Criterio de inclusión.

Ratones albinos *Mus musculus* de ambos sexos, con peso corporal de 30 - 40 g y sin ninguna patología.

3.3.2 Criterio de exclusión.

Ratones albinos *Mus musculus* que no se encuentran en el rango de peso establecido, que no hayan sido tratados en otras pruebas experimentales y con algún tipo de patología.

3.4. Muestras, materiales, solventes, reactivos y otros.

3.4.1 Muestra vegetal:

La raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

3.4.2 Muestra biológico:

Se empleó 49 ratones albinos de cepa Balb/C53/CNPB y especie *Mus musculus* con peso corporal de 30 – 40 g de ambos sexos.

3.4.3 Solventes químicos:

- Etanol.
- Metanol.
- n-butanol.
- Acetato de etilo.
- Cloroformo.
- n-hexano.
- Acetona.
- Benceno.
- Éter etílico.
- Éter de petróleo.

3.4.4 Reactivos químicos:

- Tricloruro de aluminio.
- Tricloruro férrico.
- Gelatina + Cloruro de sodio.
- Shinoda.
- Dragendorff.
- Mayer.
- Popoff.
- Sonneschein.
- Wagner.
- Liebermann –Burchard.
- Salkowski.

3.4.5 Equipos para obtención de la muestra.

- Balanza semi-analítica de marca Sartorius (Modelo ELT602, serie 25955357).
- Balanza analítica (Modelo: Sartorius; Serie: TE2145).
- Estufa de marca MemmertGmbH, Serie 51-11-004865.
- Campana extractora (Modelo: KtPeru; Serie: CL-1000).
- Lámpara UV (Modelo 4305M/MH).

3.4.6 Materiales de laboratorio y otros.

- Beacker de 50, 100 y 200 mL de vidrio Pyrex.
- Goteros de plástico.
- Pipetas de vidrio 5 mL y 10 mL.
- Espátula de metal.
- Bagueta de vidrio.
- Tubos de ensayo de vidrio.
- Probeta de 100 mL.
- Mortero de porcelana.
- Pílon de porcelana.
- Cánula metálica N° 18.
- Jaula de plástico para ratones.
- Jeringa de insulina 1 mL.
- Gasa Estéril 20 x 20 cm.
- Algodón 100 g.
- Papel filtro.
- Frasco de vidrio de 20 L.
- Guantes látex descartable N° 6 ½.
- Mascarillas descartables.
- Gorros descartables.
- Fuente de vidrio Pyrex.

3.4.7 Reactivo para la prueba de ensayo.

- Ácido acético glacial al 0,8 %.

3.4.8 Medicamentos y otros.

- Clorhidrato de Tramadol Q.P.
- Paracetamol Q.P.
- Extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

3.5. Metodología de la preparación y evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".



Figura 10. Preparación y evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

3.6. Lugar de desarrollo y ejecución del experimento.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en Setiembre del 2017 a Marzo del 2018, en el Centro de Investigación Farmacéutica y bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.

3.7. Evaluación Farmacognóstica.

3.7.1. Recolección del material botánico.

La especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” se colectaron en Octubre del 2017 siendo la mejor época del año,⁶ un aproximado de 10 kilos, de la comunidad de San Antonio, ubicada a 3,200 m.s.n.m en el distrito de Tamburco, provincia Abancay, departamento de Apurímac. La muestra recolectada se envuelve en papel kraff, se roció alcohol 96° para su previa conservación embalada en cajas de cartón.

3.7.2. Procesamiento del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

La especie vegetal es seleccionada, se procedió a pesar 4 kilos de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. y al secado en una estufa a 40° C para la conservación de sus metabolitos presentes, se pulveriza la raíz una vez ya seca, se coloca en un recipiente hermético con un aproximado de 4 litros de alcohol de 70° donde permanecerá macerado por 7 días, este deberá ser agitado una vez al día. Se procedió al filtrado y se coloca en la estufa a 40° C para obtener el extracto seco.

3.8. Ensayos preliminares.

3.8.1. Prueba de solubilidad de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”

La prueba de solubilidad es una técnica para la identificación de la disolución del extracto de la muestra seca de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, con distintos solventes y diferentes polaridades. Se utilizó

11 tubos de ensayo con 5 mg de la muestra seca con un 1 mL del solvente:

- Agua destilada.
- Etanol.
- Metanol.
- n-butanol.
- Acetato de etilo.
- Cloroformo.
- n-hexano.
- Acetona.
- Benceno.
- Éter etílico.
- Éter de petróleo.

3.8.2. Análisis cualitativo fitoquímico de la especie *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".^{56,57}

El análisis cualitativo fitoquímico es una técnica preliminar de identificación de metabolitos primarios y secundarios del extracto etanólico, basándose en las pruebas de coloración y precipitación, con la finalidad de confirmar la presencia o ausencia de metabolitos. Se tomó 5 mg de la muestra de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" el cual será diluido con etanol, luego se agregó a cada tubo de ensayo un 1 mL del solvente. Se utilizó 11 tubos de ensayo para la determinación de metabolitos en el extracto etanólico, pueden ser:

- a. Alcaloides.
- b. Fenoles y taninos.
- c. Triterpenoides y/o esteroides.

Se utilizó los siguientes reactivos:

1. Tricloruro de aluminio.
2. Tricloruro férrico.

3. Gelatina + Cloruro de sodio.
4. Shinoda.
5. Dragendorff.
6. Mayer.
7. Popoff.
8. Sonneschein.
9. Wagner.
10. Liebermann – Burchard.
11. Salkowski.

3.8.3. Pasos para la identificación de metabolitos presentes en la especie vegetal de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.^{13,58}

3.8.3.1. Detección de alcaloides.

Para la detección de alcaloides se utilizó el extracto puro de la especie vegetal, obteniendo cristales por el medio alcalino al cual se le agregó 1 mL de HCl Q.P.

1. **Prueba de Dragendorff:** Con 5 mg del extracto disuelto, se añadió 1 mL del reactivo Dragendorff (Tetrayodo bismuto de potasio); se obtuvo un precipitado de color marrón anaranjado indica que la prueba es positiva.
2. **Prueba de Mayer:** Con 5 mg del extracto disuelto más el reactivo de Mayer (Mercurio tetrayoduro de potasio); se obtuvo un precipitado de color blanco o crema, indica que la prueba es positiva.
3. **Prueba de Popoff:** Con 5 mg del extracto disuelto más el reactivo de Popoff (Ácido pícrico); se obtuvo un precipitado de color amarillo, indica que la prueba es positiva.
4. **Prueba de Wagner:** Con 5 mg del extracto disuelto más el reactivo de Wagner (Yodo-yoduro de potasio), se obtuvo un precipitado de color marrón rojizo, indica que la prueba es positiva.

5. **Prueba de Sonneschein:** Con 5 mg del extracto disuelto más el reactivo de Sonneschein (Ácido fosfomolibdico), se obtuvo un precipitado de color amarillo verdusco, indica que la prueba es positiva.

3.8.3.2. **Detección de componentes fenólicos y taninos.**^{13,58}

1. **Reacción de Shinoda: Detección de flavonoides:** Con 5 mg del extracto disuelto, se añadió fragmentos de granada de magnesio y HCl Q.P. gota a gota; se obtuvo una coloración rojizo, indica que la prueba es positiva.
2. **Reacción de Tricloruro de aluminio: Detección de flavonoides:** La reacción de flavonoides con sales metálicas como el tricloruro de aluminio actúa como excelente catalizador para la reacción de coloración. Se observó la formación de un halo amarillo con la ayuda de una lámpara Ultra Violeta visible a 365 nm, indica que la prueba es positiva.
3. **Prueba Salkowski: Flavonoides con núcleo esteroideal:** Con 5 mg del extracto disuelto en 1 mL de cloroformo, se disolvió en III gotas de H₂SO₄ Q.P. La prueba es positiva para flavonas y flavonoles si las coloraciones son amarillas; para flavonas las coloraciones son naranjaguinda, para chalconas la coloración rojo-azulosa; se obtuvo una coloración rojo vino, indica que la prueba es positiva.
4. **Prueba de Tricloruro férrico: Compuestos fenólicos:** Con 5 mg del extracto disuelto más IV gotas de tricloruro férrico al 5 % neutro; se obtuvo una coloración verde azulado, indica que la prueba es positiva.
5. **Prueba de Gelatina+ NaCl: Detección de taninos:** Con 5 mg del extracto disuelto más 2 mL de una solución de gelatina (1 %) que contiene cloruro sódico (10 %); se obtuvo un precipitado blanco lechoso, indica que la prueba es positiva.

3.8.3.3. Detección de fitoesteroles.^{13,58}

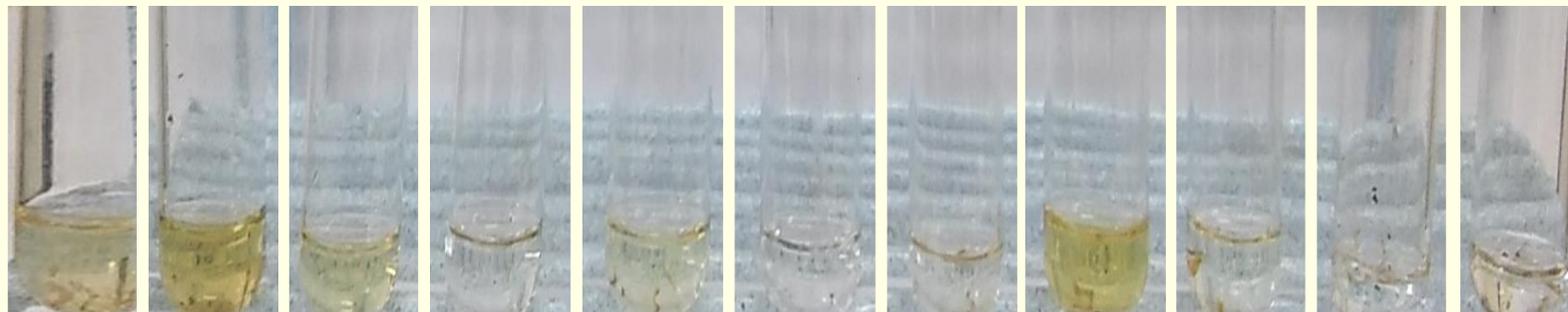
- 1. Prueba de Liebermann - Burchard: Detección de triterpenoides y/o esteroides:** Con 5 mg del extracto disuelto, se añadió 2 mL de anhídrido acético añadiéndose lentamente 11 gotas H₂SO₄ Q.P por las paredes del tubo de ensayo; se obtuvo una coloración amarillento rojizo, indica que la prueba es positiva.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD

Muestra del extracto seco de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en un frasco ámbar de vidrio (rotulado).



Se coloca la muestra más el 1mL del reactivo y se observa la disolución de los solventes con la muestra seca de la especie vegetal.



H ₂ O(d)	EtOH	MeOH	BuOH	EtoAC	CHCl ₃	Hex	Me ₂ CO	Bz	Et ₂ O	EP
(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

Leyenda:

Soluble (+), Insoluble (-)

Figura 11. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

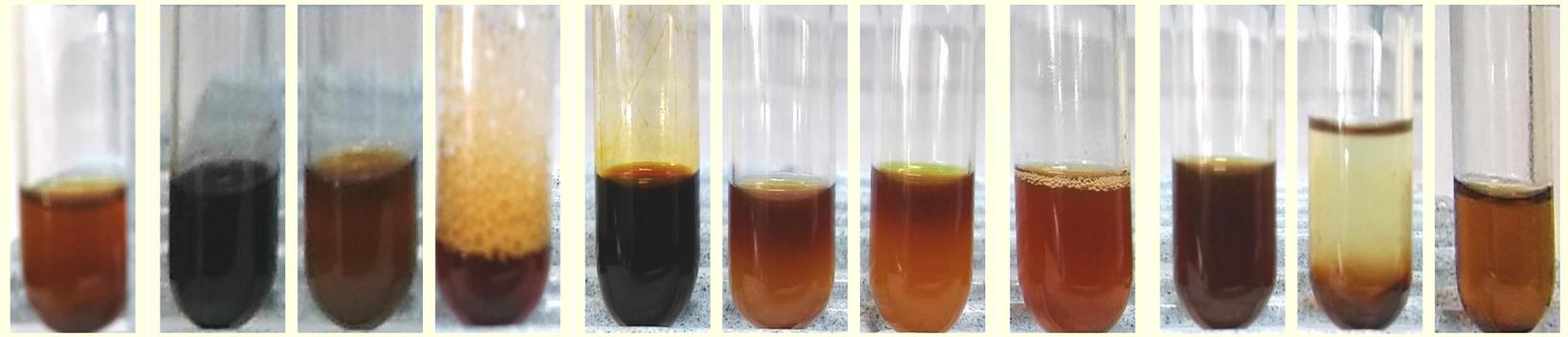
PERFIL CUALITATIVO FITOQUÍMICO



Muestra del extracto seco de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en un frasco ámbar de vidrio (rotulado).



Se coloca la muestra 0,5 mL más el reactivo y se observa la presencia o ausencia de metabolitos a través de la coloración y precipitación.



AlCl ₃	FeCl ₃	Gelatina + NaCl	Shinoda	Dragendorff	Mayer	Popoff	Sonneschein	Wagner	Liebermann - Burchard	Salkowski
(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Leyenda:
Ausencia (-), Presencia (+)

Figura 12. Prueba del análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

3.9. Procedimiento de la actividad analgésica en ratones.

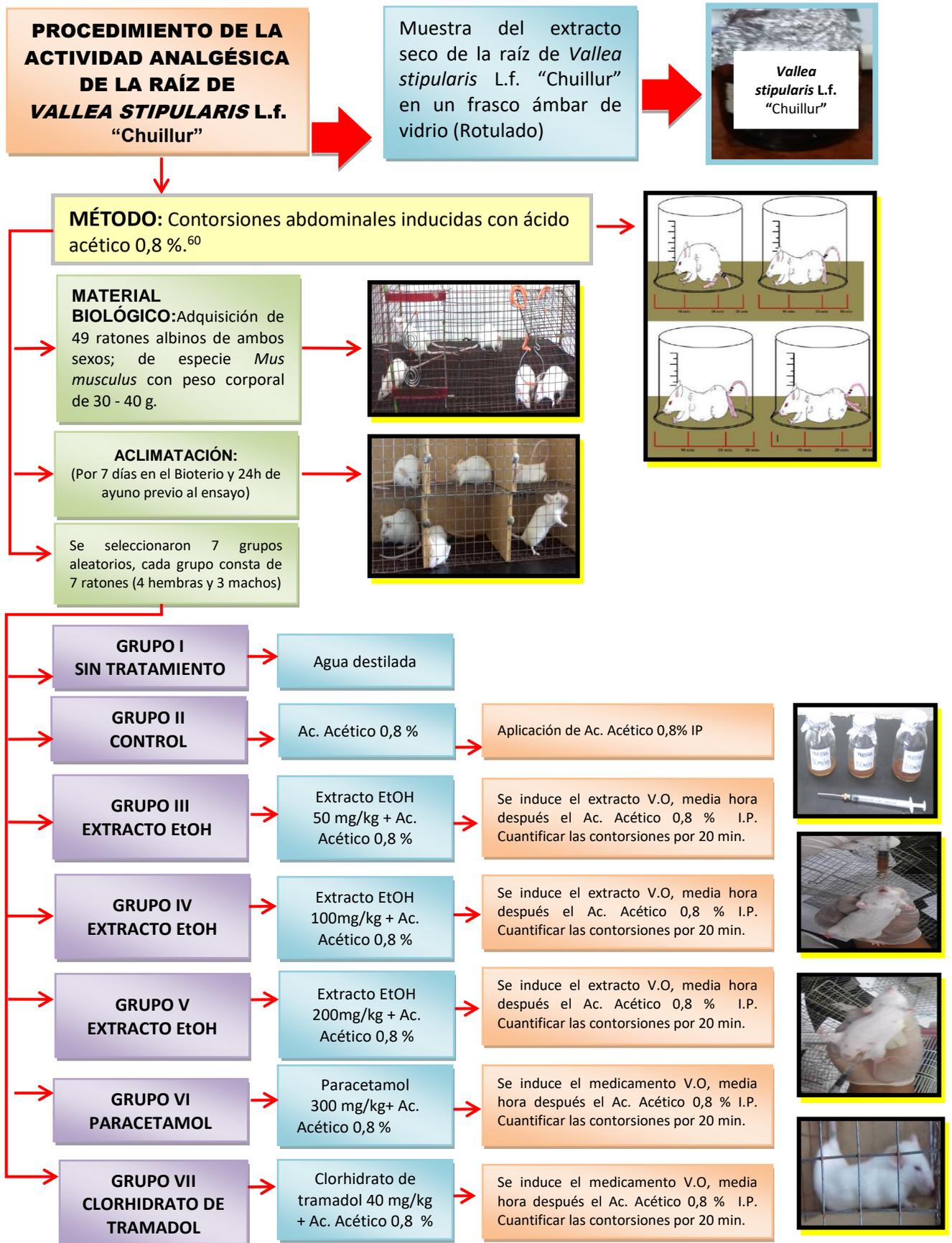


Figura 13. Procedimiento experimental de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur"

3.10. Estudio farmacológicos - biológicos.

3.10.1 Animales de experimentación.

En el estudio experimental se utilizó 49 ratones albinos especie *Mus musculus* y de cepa Balb/C53/CNPB de ambos sexos, con peso corporal de 30 - 40 g distribuidos aleatoriamente en siete grupos (n=7), en un período de adaptación de 7 días a condiciones del bioterio de la Universidad Norbert Wiener para ser sometidos a cada una de las pruebas. Estos fueron pesados, clasificados de manera equitativa, con alimento y agua, con ciclo luz/oscuridad de 12 horas, en ayunas por 24 horas para las pruebas respectivas. Los experimentos se desarrollarán siguiendo las normativas de trabajo con animales de experimentación.⁵⁹

3.10.2 Preparación y elaboración de las dosis del extracto etanólico *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

A partir del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” se realizó la preparación de las tres dosis con las siguientes concentraciones 50, 100 y 200 mg/kg; siendo diluidas con agua destilada.

3.10.3 Preparación de los estándares Q. P.

Se utilizó dos estándares químicamente puros (Q.P), a concentraciones requeridas según el método planteado, siendo diluidos con agua destilada para la respectiva experimentación: Paracetamol Q.P. 300 mg/kg y Clorhidrato de Tramadol Q.P. 40 mg/kg.

3.10.4 Prueba de Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 % (Koster, et al.).⁶⁰

La evaluación de la actividad analgésica del extracto se empleó con el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético al 0,8 %. Se trabajará con ratones de especie *Mus musculus* y de cepa

Balb/C53/CNPB, aclimatados en el bioterio por 7 días con ciclo luz-oscuridad de 12 horas, con peso corporal de 30 - 40 g, previamente al ensayo se les mantuvo 24 horas de ayuno. Para este ensayo se diseñó 7 grupos experimentales de 7 animales cada uno y la administración se realizará por vía intraperitoneal (I.P). Las dosis administradas de los tratamientos se calcularon con los pesos de los ratones (mg/kg).^{9,61}

Las dosis de los tratamientos se relacionaron con el peso de los ratones expresados en mg/kg. Los siete grupos empleados fueron: 3 extractos EtOH de (50, 100 y 200 mg/kg), Paracetamol 300 mg/kg, Clorhidrato de Tramadol 40 mg/kg, ácido acético 0,8 % y agua destilada.

Tabla3. Distribución del material biológico para las pruebas de experimentación. (Ratones albinos de especie *Mus musculus*).

GRUPOS		TRATAMIENTO
GRUPO I :	Sin Tratamiento	Agua destilada
GRUPO II :	Control	Ac. Acético 0,8 %
GRUPO III :	Extracto EtOH	Extracto EtOH 50 mg/kg + Ac. Acético 0,8 %
GRUPO IV :	Extracto EtOH	Extracto EtOH 100 mg/kg + Ac. Acético 0,8 %
GRUPO V:	Extracto EtOH	Extracto EtOH 200 mg/kg + Ac. Acético 0,8 %
GRUPO VI :	Paracetamol	Paracetamol 300 mg/kg + Ac. Acético 0,8 %
GRUPO VII:	Clorhidrato de Tramadol	Clorhidrato de tramadol 40mg/kg + Ac. Acético 0,8 %

Las dosificaciones se realizaron por vía oral usando una cánula metálica N° 18, 30 minutos después de haber actuado los extractos etanólicos, el Paracetamol y el Clorhidrato de Tramadol se les administró por vía I.P ácido acético 0,8 % con la ayuda de una jeringa de insulina descartable de 1 mL a una dosis de 0,1 mL/10 g según el peso corporal. Al grupo sin tratamiento se le administró solo agua destilada y el grupo control solo se le administró ácido acético al 0,8 %, inmediatamente se procedió a realizar el conteo de el número de contorsiones abdominales de los grupos respectivamente durante 20 minutos. De las contorsiones abdominales producidas, se calculó el porcentaje de inhibición empleando la fórmula siguiente:⁶⁰

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - \left(\frac{Ct}{Cc} \right) \times 100$$

Dónde:

Ct: Número de contorsiones del grupo tratado.

Cc: Número de contorsiones del grupo control.

3.10.5 Efecto sobre los estiramientos inducidos por ácido acético 0,8 %.

La prueba está basada en la aplicación del ácido acético I.P, el cual causa un estímulo de dolor químico, esta solución irritante produce inflamación y dolor en la cavidad peritoneal manifestando retorcimiento, estiramientos de las patas traseras y encorvamiento del torso. De esta manera se da respuesta al estímulo llevando a cabo el conteo de las contorsiones abdominales, el cual será reducido por los estándares y muestras aplicadas.³¹

Los estiramientos se caracteriza por contracciones abdominales seguidas por torsiones del tronco y extensión de los miembros posteriores en respuesta a la irritación por el ácido acético 0,8 %.⁶²

Leyenda:

- a) Animal de experimentación en reposo.
- b) Inicio de la contracción abdominal.
- c) Torsión del tronco e inicio de la extensión de las patas traseras.
- d) Registro de la contorsión.

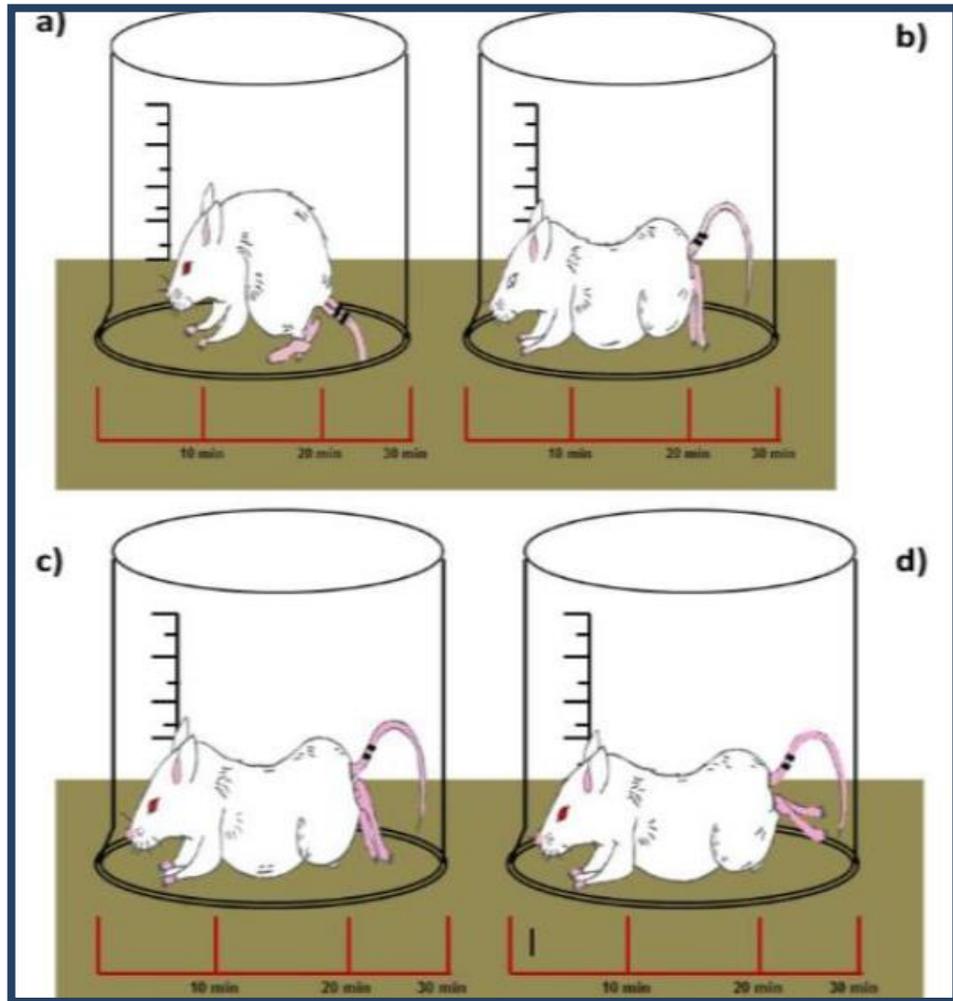


Figura 14. Actividad analgésica, contorsiones abdominales.⁶²

IV.RESULTADOS

4.1. Pruebas fitoquímicas preliminares.

4.1.1. Prueba de solubilidad de la especie de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

El extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur", es soluble en solventes polares tales como: Agua destilada, etanol y metanol, e insolubles en: n-butanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo, hexano, benceno, éter etílico y éter de petróleo.

Tabla 4. Solubilidad del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur"

Solventes	Nomenclatura	Resultado
Agua destilada	(H ₂ O) _d	+
Etanol	(EtOH)	+
Metanol	(MeOH)	+
n-butanol	(BuOH)	-
Acetato de etilo	(EtOAC)	-
Cloroformo	(CHCl ₃)	-
n-hexano	(Hex)	-
Acetona	(Me ₂ CO)	-
Benceno	(BZ)	-
Éter etílico	(Et ₂ O)	-
Éter de petróleo	(EP)	-
Leyenda: Soluble(+), Insoluble(-)		

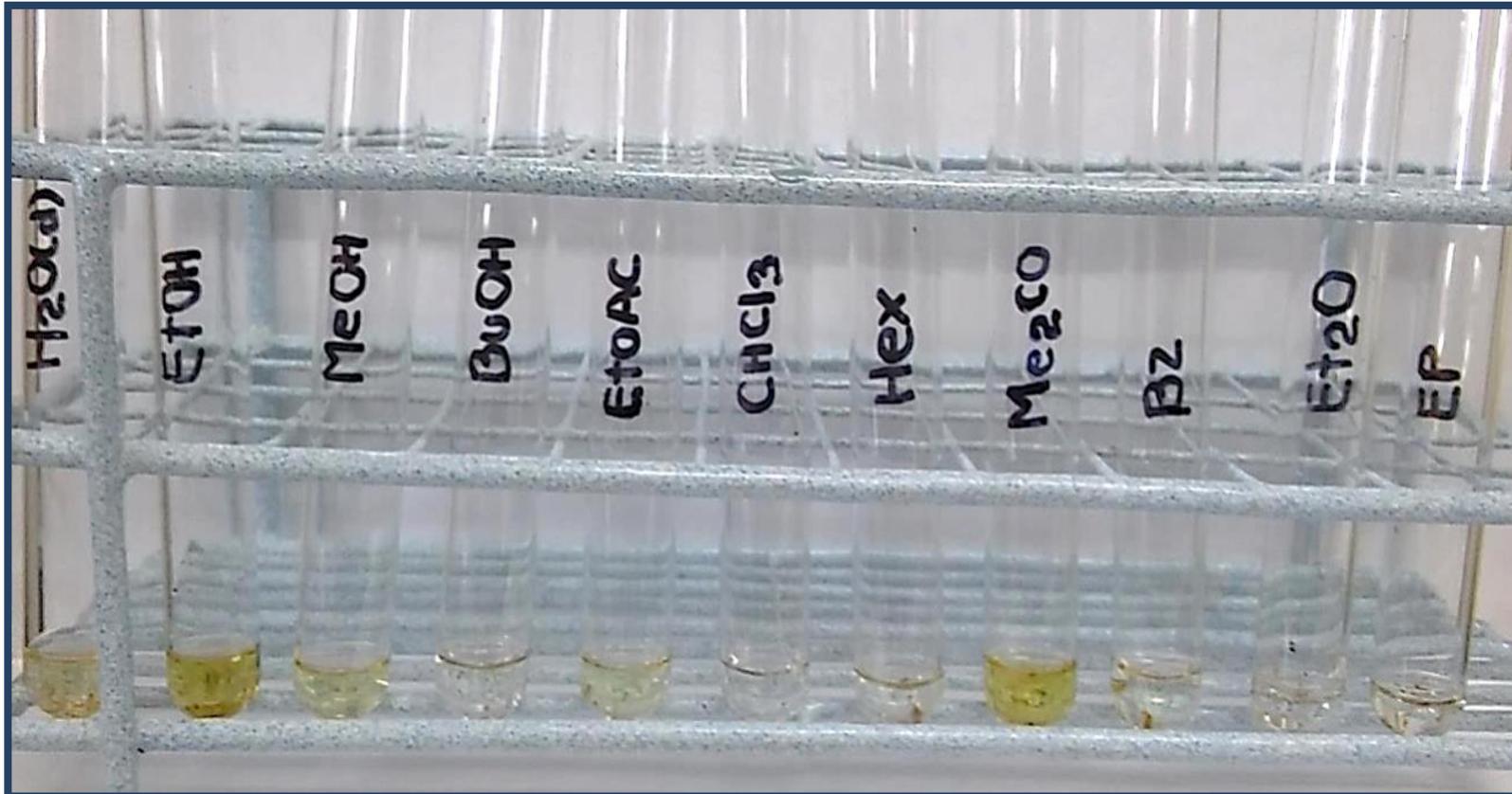


Figura 15. Prueba de solubilidad del extracto etanólico del raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur.

4.1.2. Análisis cualitativo fitoquímico de la especie vegetal de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.^{56,57}

Basados en las pruebas de coloración y precipitación de la especie vegetal de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, se determinó la presencia de metabolitos secundarios evidenciándose: Compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides.

Tabla 5. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.

Reacción	Metabolitos primarios y secundarios	Observación	Resultado
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	Coloración verde azulado	+
Gelatina + NaCl	Taninos	Precipitado blancolechoso	+
Tricloruro de aluminio	Flavonoides	Halo amarillo	+
Shinoda	Flavonoides	Coloración rojizo	+
Salkowski	Esteroides	Coloración rojo vino	+
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado marrón anaranjado	+
Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco o crema	+
Popoff	Alcaloides	Precipitado amarillo	+
Sommeschein	Alcaloides	Precipitado amarillo verduzco	+
Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón rojizo	+
Liebermann - Burchard	Triterpenoides y/o esteroides	Coloración amarillento rojizo	+

Leyenda: Ausencia (+), Presencia (-)

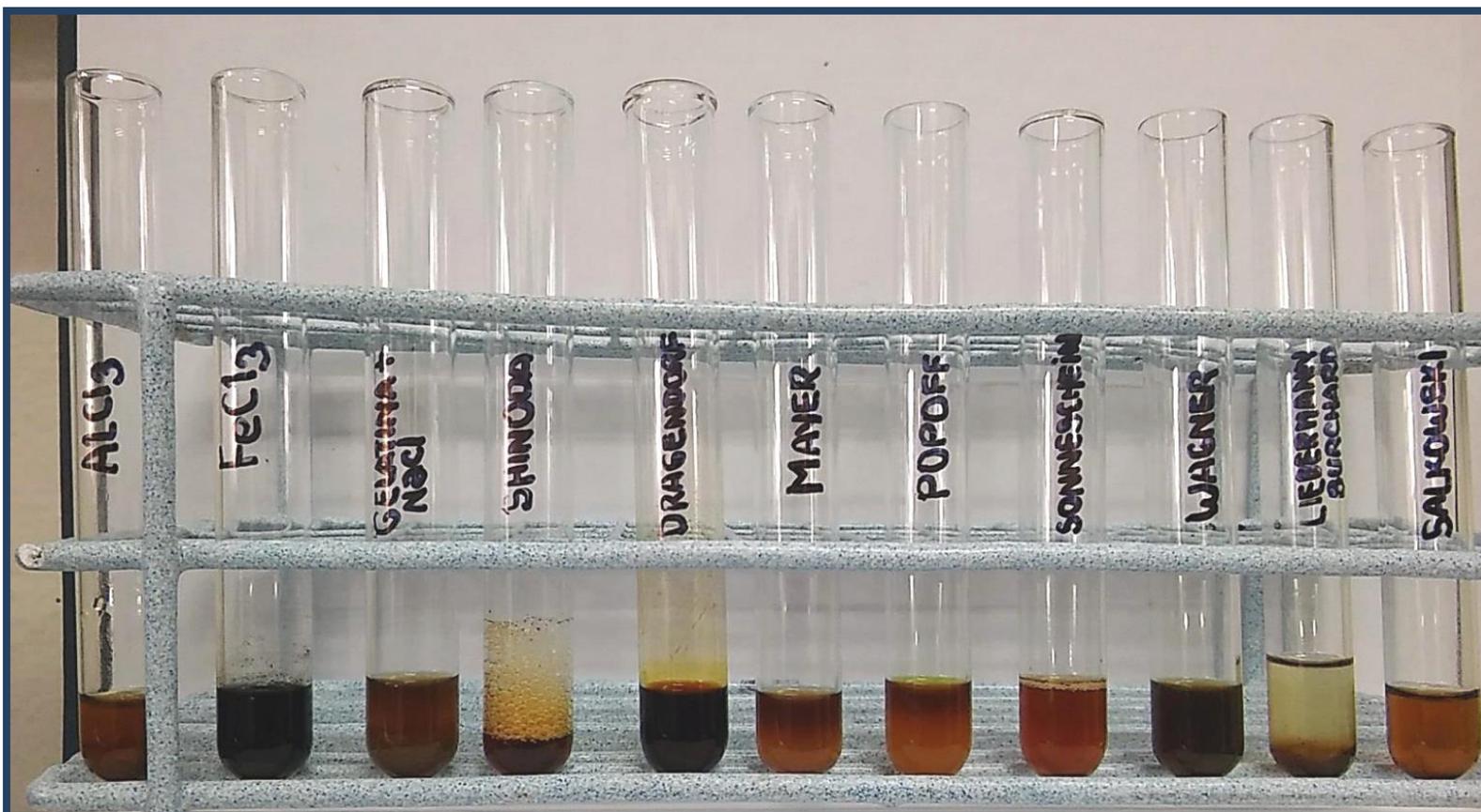


Figura 16. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

4.1.3. Análisis estadístico del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”. (SPSS versión 23,00)

Tabla 6. Estadísticas descriptivas del número promedio de contorsiones abdominales en ratones tratados con extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” por género

Sexo	Tratamiento	N	Media	Desviación típica (S)	Intervalo de confianza para la media al 95 %		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Hembras	Grupo Control (Ac. Acético) 0,8 %	3	53.00	2.646	46.43	59.57	51	56
	Extracto EtOH 50 mg/kg	4	34.25	3.096	29.32	39.18	30	37
	Extracto EtOH 100 mg/kg	4	25.75	.957	24.23	27.27	25	27
	Extracto EtOH 200 mg/kg	4	17.00	1.826	14.09	19.91	15	19
	Paracetamol 300 mg/kg	3	27.00	1.000	24.52	29.48	26	28
	Tramadol 40 mg/kg	3	13.67	1.528	9.87	17.46	12	15
	Grupo Control (Ac. Acético) 0,8 %	4	58.50	3.416	53.06	63.94	54	62
Machos	Extracto EtOH 50 mg/kg	3	33.00	2.646	26.43	39.57	30	35
	Extracto EtOH 100 mg/kg	3	27.67	.577	26.23	29.10	27	28
	Extracto EtOH 200 mg/kg	3	16.67	1.528	12.87	20.46	15	18
	Paracetamol 300 mg/kg	4	24.25	.957	22.73	25.77	23	25
	Tramadol 40 mg/kg	4	14.00	1.414	11.75	16.25	13	16
	Grupo Control (Ac. Acético) 0,8 %	3	53.00	2.646	46.43	59.57	51	56

En la **tabla 6**, se observa el número promedio de contorsiones abdominales de cada grupo de ratones por el género, donde nos muestra que los ratones hembra con el grupo control (Ac. Acético 0,8 %) presenta el mayor valor de la media con un promedio de 53 contorsiones, con el grupo tratado el extracto EtOH 200 mg/kg presentó un promedio de 17 y el menor valor es para el Tramadol 40 mg/kg con 13,67 contorsiones. En cuanto a la desviación típica(s) el grupo de los extractos con resultados homogéneos fue el extracto EtOH 100 mg/kg ($s=0,957$) en contraposición con el más heterogéneo fue el grupo del extracto EtOH 50 mg/kg ($s=3,096$).

En la **tabla 6**, se muestran los intervalos de confianza para el número promedio de contorsiones de cada grupo, tenemos a los ratones hembra tratados con el extracto EtOH 200 mg/kg que presentan un promedio de 14,09 a 19,91 contorsiones abdominales con un nivel de confianza del 95 %, así mismo al Tramadol con 9,87 a 17,46 contorsiones.

En la **tabla 6**, en el caso de los ratones macho, se registraron resultados similares al de las hembras; donde el menor valor de la media se da en el grupo tratado es con el extracto EtOH 200 mg /kg (16,67 contorsiones) al igual que el grupo tratado con Tramadol con una media 14 contorsiones. Para la desviación típica (s) el grupo más homogéneo fue para el extracto EtOH 100 mg/kg ($s=0,577$) y el grupo más heterogéneo es para el grupo control Ac. Acético 0,8 % ($s=3,416$).

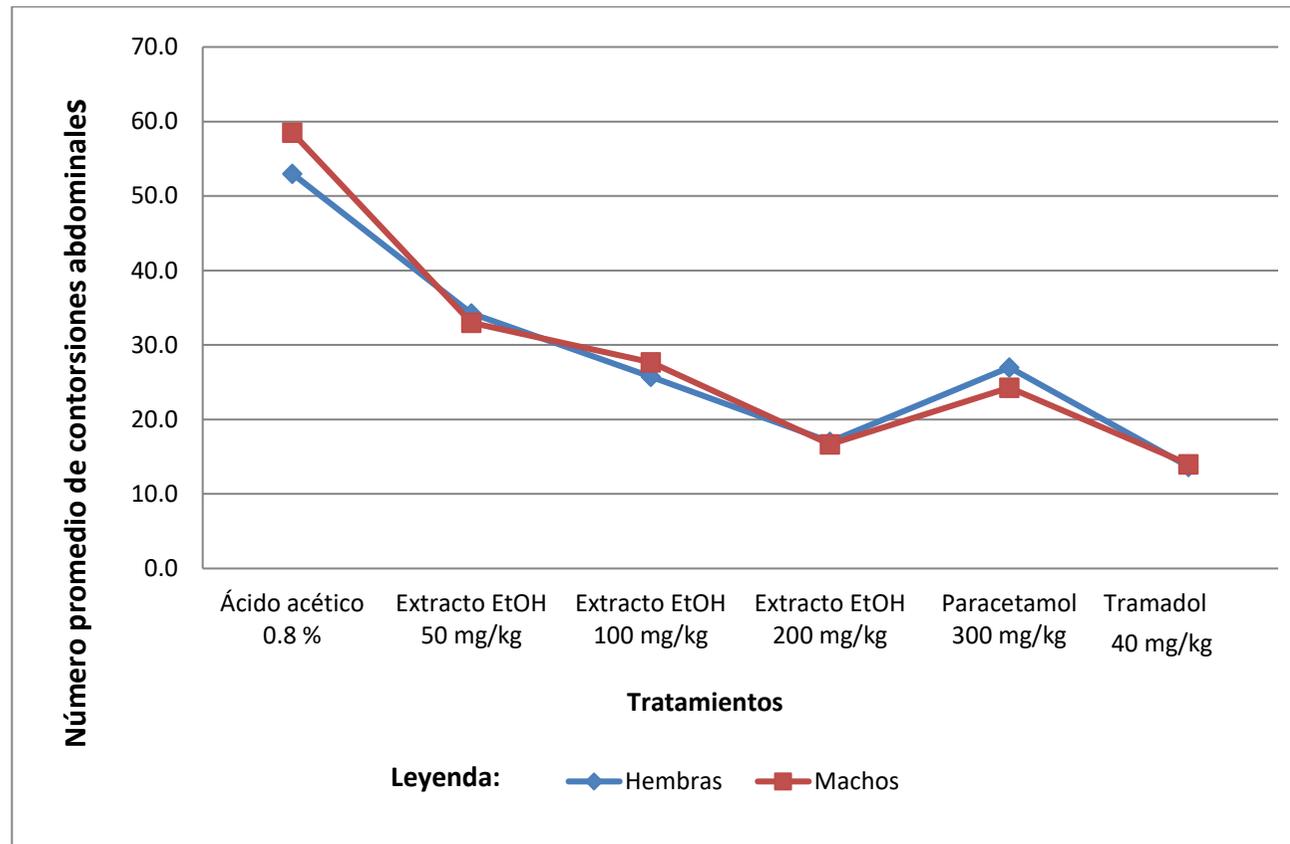


Figura 17. Representación de las medias del número promedio de contorsiones abdominales en ratones tratados con extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” por género.

En la **figura 17**, nos muestra que las diferencias en los promedios por género son bastante pequeñas; en ambos casos a medida que se incrementan las concentraciones del extracto (50, 100, 200 mg/kg) el número de contorsiones promedio disminuye; por ello, dada las similitudes el análisis se realizará de manera conjunta.

Tabla 7. Estadísticas descriptivas del número promedio de contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

Tratamiento	N	Media	Desviación típica (S)	Intervalo de confianza para la media al 95 %		Mínimo	Máximo	CV %
				Límite inferior	Límite superior			
Ácido acético 0.8 %	7	56.14	4.100	52.35	59.93	51	62	7.3 %
Extracto EtOH 50 mg/kg	7	33.71	2.752	31.17	36.26	30	37	8.2 %
Extracto EtOH 100 mg/kg	7	26.57	1.272	25.39	27.75	25	28	4.8 %
Extracto EtOH 200 mg/kg	7	16.86	1.574	15.40	18.31	15	19	9.3 %
Paracetamol 300 mg/kg	7	25.43	1.718	23.84	27.02	23	28	6.8 %
Tramadol 40 mg/kg	7	13.86	1.345	12.61	15.10	12	16	9.7 %

La **tabla 7**, nos muestra las estadísticas descriptivas considerando 7 ratones por grupo de ambos sexos, al observar el número de promedio de contorsiones abdominales, se aprecia que todos los grupos tratados con extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” (50, 100 y 200 mg/kg) lograron disminuir las contorsiones abdominales, comparados al grupo control (Ac. acético 0,8 %).

El menor promedio se da en el grupo tratado con Tramadol (1,345), seguido del extracto EtOH 200 mg/kg (16,86) con una desviación típica de 1,574 contorsiones con la cual se construye su respectivo intervalo de confianza, en este caso se espera que los ratones tratados con extracto EtOH 200 mg/kg presenten en promedio entre 15,4 y 18,31 contorsiones con un 95 % de seguridad.

En cuanto a los valores extremos, el número máximo de contorsiones se observó en el grupo control negativo (62 contorsiones) y el menor valor en el grupo tratado con Tramadol (12 contorsiones).

Es importante observar que el grupo control negativo muestra una mayor heterogeneidad ($s=4,100$). Lo cual implica que los grupos no son homogéneos en variabilidad. (Figura 18)

El coeficiente de variación (CV %) es una medida de la variabilidad observada dentro de cada grupo, la cual se considera heterogénea cuando es mayor al 5 %, en nuestro caso a excepción del grupo tratado con extracto EtOH 100 mg/kg, todos los demás grupos presentan un valor superior al 5 %, por tanto decimos que los grupos son heterogéneos en cuanto a su variabilidad.

.

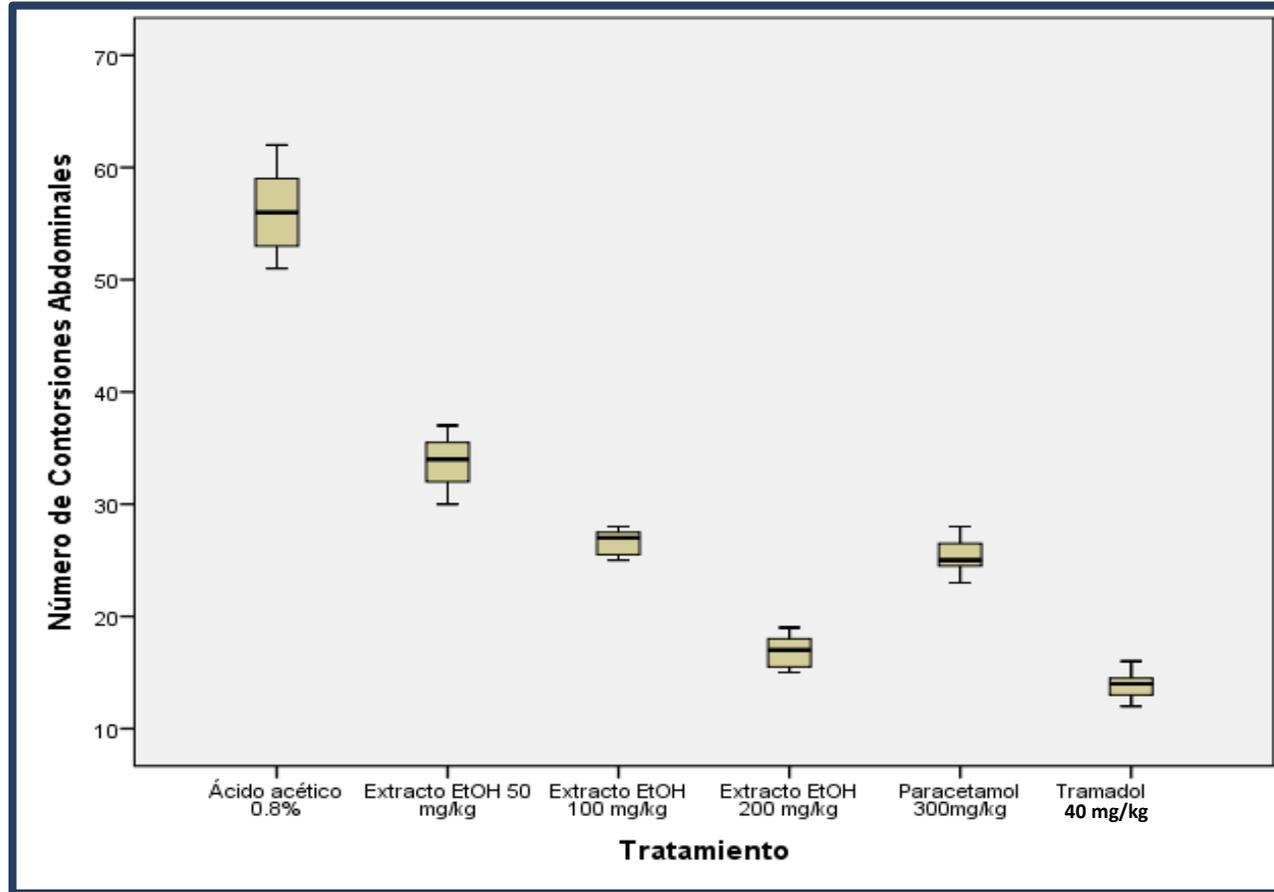


Figura 18. Diagrama de cajas del número de contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

En la **figura 18**, se observa que a medida que se incrementan las concentraciones del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” el valor mediano de las contorsiones disminuye, de manera similar al promedio. La primera caja correspondiente al grupo control presenta una amplitud (Variabilidad) bastante diferente al resto, esto podría impedir el uso del método ANOVA la cual supone varianzas iguales, para confirmar esta sospecha realizamos una prueba de Homogeneidad de Varianzas.

Tabla 8. Prueba de homogeneidad de varianzas de contorsiones abdominales de todos los grupos experimentales.

Numero de contorsiones			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	p valor
3.819	5	36	.007

H0: Las varianzas del número de contorsiones de los 6 tratamientos son iguales (Homogeneidad)

H1: Al menos existe un grupo con varianza del número de contorsiones diferente a los demás (Heterogeneidad)

- Si el $p < 0,05$ se rechaza la Hipótesis nula (H0) y se acepta la Hipótesis Alterna (H1).
- Si el p valor es mayor a 0,05 se acepta la Hipótesis nula (H0).

La **tabla 8**, nos indica que las varianzas de los grupos no son iguales ($p=0,007$), esto nos impide ejecutar una prueba Anova y por lo tanto realizaremos una prueba no paramétrica la cual no supone varianzas iguales: La Prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla 9. Número de contorsiones abdominales validada por la prueba de Kruskal-Wallis.

Estadísticos de contraste ^{a,b}	
Contorsiones abdominales	
Chi-cuadrado	38.723
gl	5
p valor	.000
a. Prueba de Kruskal-Wallis	
b. Variable de agrupación: Tratamiento	

H0: El promedio de contorsiones de los 6 tratamientos son iguales.

H1: Al menos existe un grupo con número promedio de contorsiones diferente a los demás.

- Si el p valor es menor a 0.05 se rechaza la Hipótesis nula (H0) y se acepta la Hipótesis Alterna (H1).
- Si el p valor es mayor a 0.05 se acepta la Hipótesis nula (H0).

La **tabla 9**, muestra la salida del SPSS para la prueba de Kruskal-Wallis la cual resulta significativa ($p \text{ valor} = 0.000$), esto significa que existe al menos un tratamiento que produce efectos analgésicos diferenciados.

Tabla 10. Comparaciones Múltiples Games-Howell del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones y los otros tratamientos.

Variable dependiente: Contorsiones			
(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Sig. (p. valor)
Ácido acético 0.8 %	Extracto EtOH 50 mg/kg	22,429*	.000
	Extracto EtOH 100 mg/kg	29,571*	.000
	Extracto EtOH 200 mg/kg	39,286*	.000
Paracetamol 300 mg/kg	Extracto EtOH 50 mg/kg	-8,286*	.001
	Extracto EtOH 100 mg/kg	-1.143	.719
	Extracto EtOH 200 mg/kg	8,571*	.000
Tramadol 40 mg/kg	Extracto EtOH 50 mg /kg	-19,857*	.000
	Extracto EtOH 100 mg/kg	-12,714*	.000
	Extracto EtOH 200 mg/kg	-3,000*	.023

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Para determinar que los tratamientos presentan efectos analgésicos realizamos comparaciones múltiples mediante Contraste de Games-Howell la cual se utiliza cuando los grupos tienen varianzas diferentes; es decir, cuando existe una heterogeneidad en las varianzas.

En la **tabla 10**, se observan las comparaciones múltiples mediante la prueba de Games-Howell, donde el acético 0,8 % comparado con los extractos de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg producen efectos analgésicos diferentes al control (p valor < 0,05).

Al ser comparado las muestras con el Paracetamol se observan dos diferencias negativas (50 y 100 mg/kg); pero esta solo es significativa con respecto al extracto EtOH 50 mg/kg lo cual indica que el efecto de este extracto es inferior al que produce el Paracetamol, mientras que el extracto EtOH 100 mg/kg tiene un efecto comparable al Paracetamol pues el valor de p es mayor a 0,05 (p valor = 0,719). En cuanto al extracto EtOH 200 mg/kg presenta una diferencia positiva y un p valor menor a 0,05; esto significa que tiene un efecto analgésico superior al Paracetamol (p valor= 0,000).

Al comparar el Tramadol versus las tres muestras de 50 100 y 200 mg/kg observamos diferencias negativas y significativas (p valor menor a 0,05) lo cual indica que sus efectos analgésicos son inferiores al Tramadol.

Tabla 11. Porcentaje de inhibición (%) de las contorsiones abdominales del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

Tratamiento	Porcentaje de inhibición		
	Hembras	Machos	Total
Extracto EtOH 50 mg/kg	35 %	44 %	40 %
Extracto EtOH 100 mg/kg	51 %	53 %	53 %
Extracto EtOH 200 mg/kg	68 %	72 %	70 %
Paracetamol 300 mg/kg	49 %	59 %	55 %
Tramadol 40mg/kg	74 %	76 %	75 %

La **tabla 11**, presenta el porcentaje de inhibición de las contorsiones en los ratones el cual es un indicador del grado analgésico en los ratones sometidos al experimento. Se observa en la última columna que el mayor efecto se presentó en el grupo tratado con Tramadol (75 %) seguido del extracto EtOH 200 mg/kg (70 %). Además se presentan los resultados por sexo, los cuales son bastante similares.

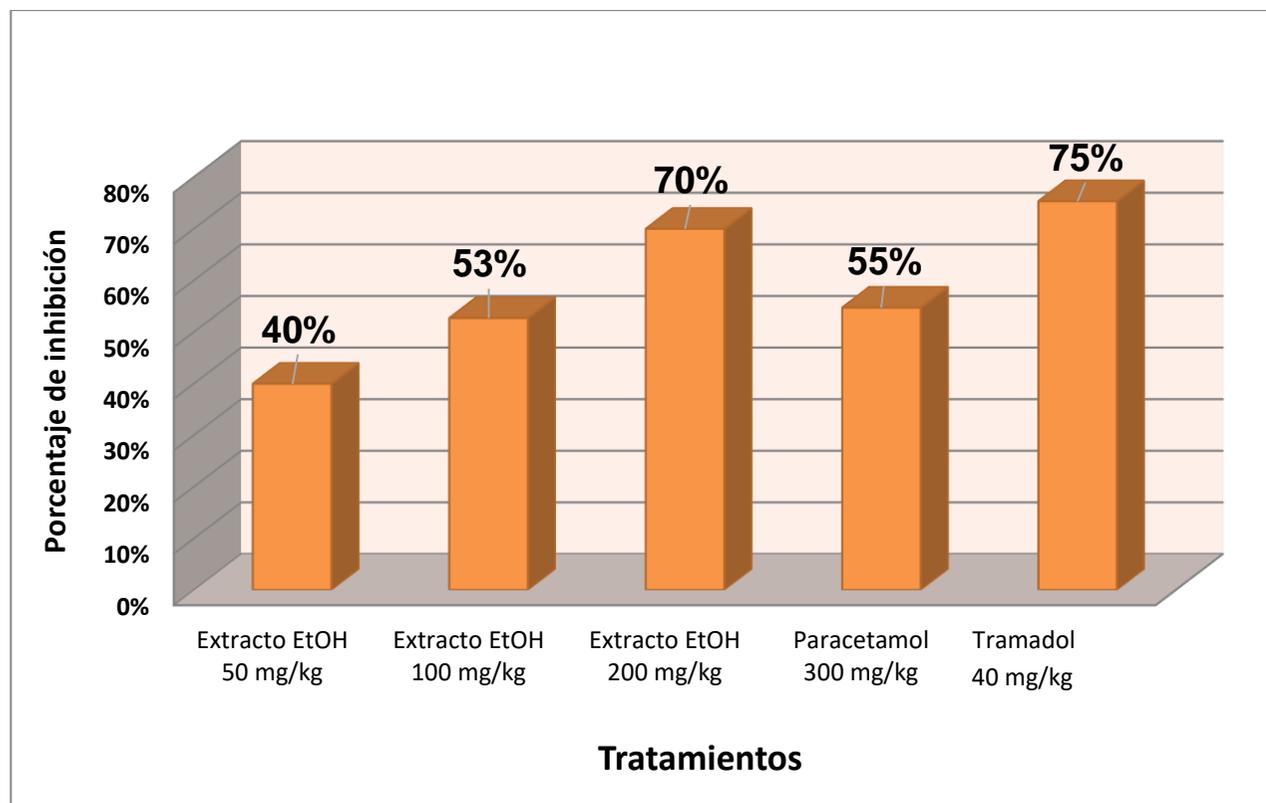


Figura 19. Porcentaje de inhibición (%) de las contusiones de las contusiones abdominales del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

En la **figura 19**, se observa que en las muestras tratadas con extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” a medida que aumenta la concentración también aumenta el % de inhibición. El valor más alto en los tres extractos de interés se produce con el extracto EtOH 200 mg/kg.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación ha demostrado que el extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” presentó efecto analgésico en ratones. Estos hallazgos son explicados a continuación.

Los flavonoides tienen como característica general ser solubles en agua y etanol, se evidencia que la mayoría de sus compuestos químicos son de naturaleza polar según manifiesta Olga Lock.³⁵ La prueba de solubilidad del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” se determinó en agua destilada, etanol y metanol facilitando la disolución de los principios activos (Tabla 4 y figura 15).

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.⁴⁴

En la prueba de análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, los resultados obtenidos demostraron la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides (Tabla 5 y figura 16).

Estudios realizados con la misma especie vegetal a nuestro estudio, confirman la presencia de metabolitos en el extracto etanólico de las hojas de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”, reportado por Ortiz M.¹¹ Entre otras investigaciones en Ecuador con el tema “Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f. de la provincia de Loja” indicó resultados similares; demostrando la presencia de compuestos tales como: Flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, aminoácidos, carbohidratos y saponina esteroidales.⁸

Otros estudios realizados determinaron que la familia Elaeocarpaceae de diferentes especies *Aristotelia chilensis* (Mol) Stutz, “maqui”¹⁶, *Elaeocarpus sphaericus* Leaf,^{17,18} *Elaeocarpus ganitrus* “rudraksha”,^{19,20} presentan actividad analgésica en sus extractos, tal es el caso de nuestra especie vegetal *Vallea*

stipularis L.f. “Chuillur” quien pertenece a la familia Elaeocarpaceae demostrando tener efecto analgésico por medio de ensayos.

La mayoría de investigaciones experimentales emplean el modelo de contorsiones abdominales para determinar acciones analgésicas de mecanismos periféricos o locales en ratones, de allí mismo validar la actividad analgésica, utilizando ácido acético a diferentes concentraciones (0,8 %;^{9,11,44} 0,6 %;^{63,64,65} 0,75 %;⁶⁶ 1 %;^{67,68} 1,5 %;^{12,69} 3 %;⁷⁰).

La prueba de contorsiones abdominales es inducida por un agente irritante (Ácido acético), este representa un tipo de dolor visceral, la irritación peritoneal es sensible tanto a algunos analgésicos centrales como periféricos; quiere decir, que implica estímulos alogénicos periféricos; y que por tanto, infieren actividad nociceptiva es estos niveles, sin ser completamente específicos ni excluir efectos analgésicos en el sistema nervioso central (SNC). La lesión de las membranas celulares peritoneales generados por las contorsiones abdominales produce liberación de prostaglandinas y de otros mediadores.^{63,67}

Los resultados obtenidos en la investigación realizada por Fernández L, *et al*, complementan la teoría del modelo de dolor visceral mencionado; entre otros.^{65,68}

Esta investigación se determinó por el método de contorsiones abdominales con ácido acético a 0,8 % I.P (intraperitoneal), determinando la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”. (Figura 13)

Generalmente para determinar la actividad analgésica se emplean fármacos estándares como: Los Aines y opioides.^{11,38}, en nuestra investigación se utilizó Paracetamol y Clorhidrato de Paracetamol. (Tabla 3)

El extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” a diferentes concentraciones (50, 100 y 200 mg/kg), permitió la comparación de la actividad analgésica con dos estándares tales como: Paracetamol 300 mg/kg y Tramadol 40 mg/kg Q.P (Químicamente puros), obteniendo un mejor resultado de

eficacia en la dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico como se observa en la (Tabla 11 y figura 19).

En un estudio realizado al extracto etanólico de las flores de *Bidens andicola* H.B.K. “quiquo”, 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 muchos resultados semejantes a nuestro estudio realizado.⁴⁴

Para los resultados obtenidos en nuestra investigación del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” se observa en la (Tabla 11 y figura 19) que nuestros extractos a las dosis de 20 mg/kg (70 %) muestra mayor porcentaje de inhibición al Paracetamol 300 mg/kg (55 %), sin superar al Tramadol 40 mg/kg (75 %), siendo el Tramadol un opioide potente, el cual posee un mejor efecto nociceptivo.¹³

Los resultados de la presente investigación fueron validados por la prueba de Kruskal-Wallis, nos indica que los promedios son diferentes; existiendo una diferencia significativa (p valor=0,000), lo que permite concluir que los tratamientos tienen efectos analgésicos diferenciados. (Tabla 9)

En otros estudios, Ortiz M,¹¹ demuestra que el extracto etanólico del fruto de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” contiene efecto analgésico, se aplicó el ensayo de contorsiones abdominales con ácido acético al 0,8 %, obteniendo como resultados porcentajes inhibitorios a dosis de 50 mg/kg (37,14 %), 100 mg/kg (49,29 %) y 200 mg/kg (70 %), estos estudios son comparados con nuestra investigación, el cual siendo la misma especie vegetal proveniente de la raíz, demostró mayor eficacia con las dosis de 50 mg/kg (40 %), 100 mg/kg (53 %) y el mismo porcentaje con la dosis de 200 mg/kg obteniendo efectos comparables a nuestro extracto.

En el estudio de la Actividad analgésica del extracto y antiinflamatoria de una crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de

Artocarpus altilis (Park.) Fosberg “Pan de árbol” en ratones,⁷¹ se observó la disminución del número de contorsiones inducidas por ácido acético al 0,8 %, con respecto al Paracetamol 300 mg/kg y Tramadol 40 mg/kg, con un efecto de los extracto de las dosis de 50 mg/kg (34 %), y 200 mg/kg (45 %), sin embargo en la presente investigación se evidencia que el efecto analgésico de nuestros extractos etanólico con la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” es mayor a las dosis de 50 mg/kg (40 %), y 200 mg/kg (70 %), demostrando así que la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. presenta un potente efecto analgésico con respecto a la otra especie menciona. (Figura 19)

VI. CONCLUSIONES

Se comprobó la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" logrando una reducción del 70 % de inhibición en las contorsiones abdominales a partir de la dosis del extracto de 200 mg/kg; siendo superior al Paracetamol 300 mg/kg.

Se realizó el análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" observando la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides.

Se determinó que la dosis del extracto etanólico de 100 mg/kg presenta efecto analgésico con un porcentaje de inhibición del 53 % a las contorsiones abdominales, siendo comparable al Paracetamol de 300 mg/kg, no obstante fue inferior al Tramadol 40 mg/Kg y el extracto etanólico de 50 mg/kg presenta efecto analgésico con un porcentaje de Inhibición del 40 %, sin embargo fue inferior al Paracetamol 300 mg/Kg y el Tramadol 40 mg/Kg. Por lo cual se concluye que las tres muestras del extracto etanólico con dosis diferentes (50, 100, 200 mg/kg) presentan efecto analgésico significativamente demostradas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda continuar con el estudio de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” ampliando y validando su actividad biológica por medio de ensayos.
2. Continuar con los estudios fitoquímicos y elucidar la posible estructura química del metabolito responsable de la actividad analgésica de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” hallados en el presente estudio (Compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides.)
3. Realizar estudios de investigación haciendo uso del extracto para determinar la seguridad y eficacia analgésica, entre otros; aplicándolo en alguna forma farmacéutica ya sea tópica como terapias alternativas para el dolor.
4. Incentivar al uso racional de esta especie vegetal, bajo enfoques conservacionistas y sostenibles.
5. Se recomienda fomentar y desarrollar más investigaciones sobre especies vegetales, nuevas sustancias en la medicina tradicional en el Perú; ya que tiene una gran diversidad de plantas aún no estudiadas, el cual permitirá beneficiar a muchas comunidades.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jayasuriya D. The regulation of medicinal plants a preliminary review of selected aspects of national legislation. Un published Report. 2014; 3:9.
2. Steinhoff B. Situación Reglamentaria de los Medicamentos Herbarios. Organización Mundial de la Salud, 2000; 1: 2.
3. División de Desarrollo de Sistemas y Servicios de Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Medicamentos Esenciales y Tecnología. OPS, 2000; 1: 14.
4. Bermúdez A, *et al.* La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia [Internet]. 2005 [Citado el 05 de Marzo del 2018]; 30(8):453-459. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33910703>
5. Morón J. Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud acerca del uso de los tratamientos tradicionales. Rev. Cubana Plant Med [Internet]. 2008 [Citado el 11 de Febrero del 2018]; 13(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400001&lng=es
6. Chávez J. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hoja *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en ratas. Tesis para optar el grado de Magister en Farmacología con mención en Farmacología Experimental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2006.
7. Salazar D. Desarrollo de un medicamento analgésico tópico de *Maytenus laevis Reissek* (Chuchuguaso). Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2013.
8. Jaramillo J. Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f. de la provincia de Loja. Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador. 2016.
9. Duménigo A, *et al.* Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux. 2014. Revista Cubana de Plantas Medicinales; 19(1):235-247

10. Rojas A, *et al.* Determinación del efecto analgésico del extracto hexánico de flores de *Eupatorium arsenei* en un modelo de dolor agudo en rata. 2015. Rev Mex Cienc Farm; 46(1).
11. Ortiz M. Actividad analgésica del extracto etanólico del Fruto *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en ratones. Título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima, Perú. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2016.
12. Salazar A, *et al.* Acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L. 2014. Acta Med Per.; 31(4): 213-219.
13. Chilquillo H, Cervantes R. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira". Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú. 2017.
14. Palacios L, Fernández L. Una nueva e interesante Especie de *Sloanea* (*Elaeocarpaceae*) del Pacífico Colombiano. 2005. Rev. Acad. Colomb. Cienc; 29(111): 179-182.
15. Keller H, Sampaio D, Tressens S. Primer registro de *Sloanea*: (*Elaeocarpaceae*) para la Argentina. Darwiniana [Internet]. 2012 [Citado el 15 de Febrero del 2018]; 50(1):154-156. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0011-793201200100011&lng=es.
16. Avello L, *et al.* Antioxidant capacity of *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2008 [Citado el 14 de Febrero del 2018];13(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400002&lng=es
17. Nain J, Garg K, Dhahiya S. Analgesic and anti-inflammatory activity of *Elaeocarpus Sphaericus* Leaf extract. Maharishi Markandeshwar University, Mullana. 4(1):379-381. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011.
18. Pant M, *et al.* *Elaeocarpus sphaericus*: A tree with curative powers. Journal of Medicinal Plants, 7: 23 - 31. April. 2013.
19. Hardainiyan S, Chandra B, Kumar K. *Elaeocarpus Ganitrus* (Rudraksha): A Reservoir Plant with their Pharmacological Effects. University of Rajasthan,

- Jaipur, India. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 34(1):55-64. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015.
20. Suresh J, Pratibha J. Review on ethno medicinal and traditional uses of *Elaeocarpus ganitrus roxb.* (Rudraksha). University of Rajasthan, Jaipur, India. Int. J. Pharm Bio Sci; 5(1): 495-511. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2014.
 21. Márquez V, *et al.* Evaluación química del extracto total etanólico de las hojas y corteza fresca de *Muntingia calabura* (Elaeocarpaceae). Scientia Et Technica [Internet] 2007, [Citado el 10 de Abril de 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84933129>.
 22. Martin C, Burgos F. New records in *Elaeocarpaceae*, *Escalloniaceae*, *Orchidaceae*, *Polypodiaceae* and *Pteridaceae* for the flora of the province of Jujuy (Argentina). 2015. Bonplandia; 24(2): 9-20.
 23. Chávez J. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad cicatrizante de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” (Tamburco-Abancay-Apurímac). Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2004.
 24. Pariente E, *et al.* Refugios de flora y su situación actual en los Andes del Perú. 2016. Arnela; 23(2): 547-568.
 25. Castro E. Evaluación de indicadores para la diferenciación de mieles provenientes de la zona cafetera de la Sierra Nevada de Santa Marta. Título para optar el grado de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 2015.
 26. Estrada R, *et al.* Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. 2012. Salud Mental; 35:375-384.
 27. Contreras J, *et al.* Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. Food Research International. 2011; 44: 2047-2053.
 28. Carvajal L, *et al.* Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011; 16(4). p.354363.
 29. Churampi L, Montes E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey “tumbo serrano” y su uso como activo biológico en Industria Cosmética. Título

- Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú. 2015.
30. Ponce A, Rodríguez F. Evaluación del efecto de Secado en los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del Aguaymanto (*Physalis peruviana* L.). Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Centro del Perú Facultad de Ciencias Aplicadas. Tarma, Perú. 2014.
 31. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. 2007. Ciencia y Tecnología; 1(1): 147.
 32. León J. Efecto hipoglicemiente del extracto de hojas de frutipan (*Artocarpus altilis*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida. Título Profesional de Bioquímica y Farmacia. Riobamba, Ecuador. 2011.
 33. García K. Caracterización química de los flavonoides presentes en *Ficus citrifolia* Mill. Tesis para optar el grado de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. 2015.
 34. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2003. Barcelona: Omega; 107-109.
 35. Lock U. "Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos Naturales, 3ra Ed. Lima-Perú: Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016.
 36. Solís M. Estudio de las posibles conformaciones de los Flavonoides Quercetina y Dihidroquercetina por Métodos de Mecánica Cuántica. Título Profesional para la obtención del grado de Licenciado en Física. Universidad Autónoma de Puebla. México. 2015.
 37. López M. Fitoterapia. Flavonoides. 2002. Offarm; 21(4): 108-113.
 38. Becerra E, Heredia L. Actividad Analgésica y Antiinflamatoria del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Ruellia graecizans* Backer (Paque-paque) en ratones. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2017.
 39. Esteba E. Analgésicos clasificación y su uso. 2008; 27(8): 68-74.
 40. Gutiérrez Y. Determinación del efecto analgésico y antiespasmódico de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). Tesis para obtener el título de Bioquímica Farmacéutico. Universidad de Cuenca. Ecuador. 2007.

41. Meza A. Dolor Agudo y Crónico. Clasificación del dolor. Historia clínica en las Unidades de Dolor. 2012. Clínica del Dolor, Servicio de Anestesiología; 1(1): 1-22.
42. Donald D. Sensory and Affective Dimensions of Pain. Molecular Interventions. 2002; 2(6):393-402.
43. Del Arco J. Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. Vizcaya, España. 2015; 29(1).
44. 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.
45. Gutierréz A. Evaluación de la eficacia del dexketoprofeno en el control del dolor intra y postoperatorio en perros sometidos a cirugía ortopédica. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Colombia. 2017.
46. Pabón T, Pineda L, Cañas O. Fisiopatología, evaluación y manejo del dolor agudo en pediatría. *Salutem Scientia Spiritus* 2015; 1(2): 25-37.
47. Zas V, *et al.* El dolor y su manejo en los cuidados paliativos. *Panorama Cuba y Salud* [[Internet] 2013, [Citado el 09 de Marzo de 2018]. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=477348951008>>
48. Argitalpen E. Guía de Práctica Clínica sobre Cuidados Paliativos. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2008. Vasco, España.
49. Organización Mundial de la Salud. Escalera analgésica de la OMS modificada. OMS, 2000.
50. Chávez N. Eficacia de paracetamol-tramadol y paracetamol-naproxeno sódico en el manejo del dolor posoperatorio en pacientes sometidos a cirugía de terceras molares retenidas. Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú. 2015.
51. Deras B, Duarte O, Salazar C. Efecto analgésico post operatorio de morfina intratecal a dosis única en cirugía ortopédica. Tesis para obtener el título de Doctor. Universidad Privada Doctor José Matías Delgado. Antiguo Cuscatlán, El Salvador. 2014.
52. Agencia española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica del Paracetamol. [Internet] 2012, [Citado el 17 de Abril de 2018]. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/>

53. Munive R. Paracetamol-Tramadol o Paracetamol-Ketorolaco endovenoso en el dolor postoperatorio de la cesárea segmentaria. Tesis para obtener el título de Anestesiología. Maracaibo, Venezuela. 2013.
54. Valiente M, Salinas F, Verdejo M. Los fármacos opioides en atención primaria. 2001. Medicina Integral; 38(3): 116-126.
55. Agencia española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica del Tramadol. [Internet] 2006,[Citado el 17 de Abril de 2018]. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/>
56. Robles M, *et al.* Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Qualitative identification of secondary metabolites and cytotoxicity and termination of tempisque extracts (*Sideroxylum capiri* Pittier).2016; 8(3): 3-8.
57. Sarkar S, *et al.* Qualitative phytochemical screening and antimicrobial studies of *Calotropis gigantea* Linn latex. BioMedRx. 2013, 1(5),563-566.
58. Chávez L, Gutiérrez D. Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L, 'Palma real'. Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Norbert Wiener. Lima, Perú. 2013.
59. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón. Ministerio de Salud. centro Nacional de Productos biológicos. INS. Lima 2008.
60. Koster R, Anderson M, De Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. Fed Proc.1959; 18: 412.
61. Ahmed S, *et al.* Analgesic Activities of Methanol Extract of Terminalia chebula Fruit. 2015. Pharmacology & Pharmacy; 6: 547-553.
62. Chávez J. Modelos de investigaciones experimentales en plantas medicinales. VII Congreso Internacional de Investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2017.
63. Sánchez N, *et al.* Efecto del zumo de *Morinda citrifolia* L. (noni) en modelos de analgesia.2012. Revista Cubana de Plantas Medicinales; 17(3): 213-222.
64. Jiménez S. Actividad analgésica del extracto Etanólico De Las Cascaras De Las Pepas *persea americana* Mill "palta fuerte" en ratones. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2016.

65. Fernández L, *et al.* Efectos del extracto de alcoholes purificados de la cera de abejas (*Apis mellifera*) en dos modelos de analgesia. 2010. Revista Cubana de Farmacia; 44(2): 205-212.
66. Furones J, Morón F, Pinedo Z. Acción analgésica de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* L. en ratones. 1996. rev cubana plant med; 1(2):15-17.
67. Robles V, *et al.* Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. "chuchuhuasi" mediante la prueba de contorsiones abdominales en ratones. Horizonte Médico. [Internet] 2014, [Citado el 13 de Febrero de 2018]. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371637133002>>
68. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. Tesis de Doctoral. La Laguna-Caja Canarias. Madrid, España. 2006.
69. González D, *et al.* Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2014 [Citado el 01 de Abril del 2018];19(3):235-247.Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000300011&lng=es.
70. Barzaga P, *et al.* Analgesic effect of the freeze-dried aqueous extract of *Ocimum tenuiflorum* L. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2005 [Citado 2018 Mayo 20]; 10(1). Disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962005000100002&lng=es.
71. Esteban V, Rodríguez E. Actividad analgésica del extracto y antiinflamatoria de una crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg "Pan de árbol" en ratones. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú. 2016.
72. González a. obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas .Tesis para obtener el título de Ingeniería Química.Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 2004.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Descripción taxonómica de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "CHUILLUR" proporcionada por JUANA ELVIRA CHAVEZ FLORES y KATHERYN ELIZABETH PICO HURTADO, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Vallea stipularis* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Engler & Prantl, modificado por Melchior en 1964, se ubica en las siguientes categorías:

División: Angiospermae
Clase: Dicotyledoneae
Subclase: Arquichlamydae
Orden: Malvales
Familia: Elaeocarpaceae
Genero: *Vallea*
Especie: *Vallea stipularis* L.f.

Se expide la presente certificación a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Lima, 03 junio 2018


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.N.R. 3719

Anexo 2. Matriz de consistencia de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES
Actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	GENERAL ¿Tiene actividad analgésica el extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones?	GENERAL Comprobar la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	GENERAL El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” presenta actividad analgésica.	<u>INDEPENDIENTE</u> El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”
	ESPECÍFICOS ¿Tendrá metabolitos el extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones por análisis cualitativo fitoquímico?	ESPECÍFICOS Identificar por análisis cualitativo fitoquímico la presencia de metabolitos en el extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	ESPECÍFICOS El análisis cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” confirma la presencia de la actividad analgésica.	DIMENSIONES: <ul style="list-style-type: none"> • Dosis del extracto de la especie vegetal. • Peso de los ratones albinos. • Sexo de los ratones albinos
	¿Tendrá actividad analgésica el extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones?	Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.	El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” presenta actividad analgésica.	<u>DEPENDIENTE</u> Actividad analgésica.

Anexo 3. Matriz de Operacionalización de variables de la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

TÍTULO: Actividad Analgésica del Extracto Etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur” en ratones.								
VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO (MÉTODO)	ÍTEMS	ESCALA	FUENTE
INDEPENDIENTE El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”.	El extracto etanólico es la extracción de líquidos concentrados, obtenidos de la maceración etanólica de una planta o parte de ella, utilizando como solvente etanol, por 7 días. ⁷¹	El extracto etanólico permitirá el estudio de la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur, obteniendo el efecto analgésico con métodos establecidos.	Identificación de metabolitos secundarios.	Reacciones: (precipitación -coloración)	Análisis cualitativo fitoquímico.	Tricloruro de aluminio	-Ausencia -Presencia	El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”
						Tricloruro férrico		
						Gelatina + Cloruro de sodio		
						Shinoda		
						Dragendorff.		
						Mayer		
						Popoff		
						Sommeschein		
						Wagner		
						Liebermman- Burchard		
						Salkowski.		
			Identificación de la solubilidad	Disolución del extracto	Prueba de Solubilidad	Agua destilada	-Soluble -Insoluble	El extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur”
		Etanol						
		Metanol						
		n- butanol						
		Acetato de etilo						
		Cloroformo						
		n-Hexano						
		Acetona						
		Benceno						
		Éter etílico						
						Éter de petróleo		
DEPENDIENTE Efecto analgésico.	El efecto analgésico es una modificación del dolor a partir de una acción con propiedad terapéutica con la finalidad de la reducción del dolor. ⁴⁰	El efecto analgésico, se realizará en base al extracto etanólico empleando la raíz de <i>Vallea stipularis</i> L.f. “Chuillur, esperando efectos deseados.	Actividad Analgésica.	Porcentajes de inhibición de las contorsiones abdominales.	Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 % (Koster, <i>et al.</i>)	Grupo I: Blanco	-	Agua destilada
						Grupo II: Control	0,8 %	Acido Acético
						Grupo III: Extracto	50 mg/kg	Extracto de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f.
						Grupo IV: Extracto	100 mg/kg	
						Grupo V: Extracto	200 mg/kg	
						Grupo VI: Paracetamol	300 mg/kg	Paracetamol Q.P
						Grupo VII: Clorhidrato de Tramadol	40 mg/kg	Clorhidrato de Tramadol Q.P

Anexo 4. Instrumento de prueba para la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur" en ratones.

		INSTRUMENTO DE PRUEBA			
TÍTULO:	Actividad Analgésica del Extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur" en ratones.				
ANALISTA:	Katheryn Elizabeth Picho Hurtado				
ASESOR:	Dra. Juana Elvira Chávez Flores				
LUGAR DE ANALISIS:	Centro de investigación farmacéutico de la Universidad Norbert Wiener.				
MUESTRA:	Extracto etanólico de la raíz <i>Vallea stipularis</i> L.f. "Chuillur"				
MÉTODO	Método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético 0,8 % (Koster, <i>et al.</i>)				
EVALUACIÓN DE PRUEBAS					
Grupo II:	Control	Tratamiento:	Ácido acético 0,8 %		
Estado:	Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	20 Minutos		
PARÁMETROS:					
Nº DE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/ MACHO	DOSIS: (Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES	
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					
OBSERVACIONES:					
Grupo III :	Extracto Etanólico	Tratamiento:	Extracto 50 mg/kg + Ácido acético 0.8 %		
Estado:	Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	50 Minutos	30 min (extracto) 20 min (Ácido acético)	
PARÁMETROS:					
Nº DE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/ MACHO	DOSIS: (Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	DOSIS: (Extracto 50 mg/kg)	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					
OBSERVACIONES:					
Grupo IV :	Extracto Etanólico	Tratamiento:	Extracto 100 mg/kg+ Ácido acético 0,8 %		
Estado:	Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	50 Minutos	30 min (extracto) 20 min (Ácido acético)	
PARÁMETROS:					
Nº DE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/ MACHO	DOSIS: (Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	DOSIS: (Extracto 100 mg/kg)	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					

OBSERVACIONES:					
Grupo V :		Extracto Etanólico	Tratamiento:	Extracto 200 mg/kg+ Ácido acético 0,8 %	
Estado:		Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	50 Minutos	30 min (extracto)
					20 min(Ácido acético)
PARÁMETROS:					
NºDE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/MACHO	DOSIS: (Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	DOSIS: (Extracto 200 mg/kg)	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					
OBSERVACIONES:					
Grupo VI :		Paracetamol	Tratamiento:	Paracetamol Q.P. 300 mg/kg + Ácido acético 0,8 %	
Estado:		Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	50 Minutos	30 min (extracto)
					20 min(Ácido acético)
PARÁMETROS:					
NºDE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/MACHO	DOSIS:(Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	DOSIS:(Paracetamol Q.P. 300 mg/kg)	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					
OBSERVACIONES:					
Grupo VII :		Clorhidrato de Tramadol	Tratamiento:	Clorhidrato de Tramadol Q.P. 40 mg/kg + Ácido acético 0,8 %	
Estado:		Ayuna 24 Hrs	Tiempo:	50 Minutos	30 min (extracto)
					20 min(Ácido acético)
NºDE RATÓN	PESO (g)	HEMBRA/MACHO	DOSIS: (Ac. Acético) 0,1 mL/10 g	DOSIS:(Clorhidrato de Tramadol Q.P. 40 mg/kg)	Nº DE CONTORSIONES ABDOMINALES
R1					
R2					
R3					
R4					
R5					
R6					
R7					
PROMEDIO DE CONTORSIONES ABDOMINALES:					
OBSERVACIONES:					
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN		$\% \text{ Inhibición} = 100 - (Ct / Cc) \times 100$ Ct: Número de contorsiones del grupo tratado. Cc: Número de contorsiones del grupo control.			

Anexo 5. Procedimientos de la extracción y prueba para la actividad analgésica del extracto etanólico de la raíz *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur” en ratones.

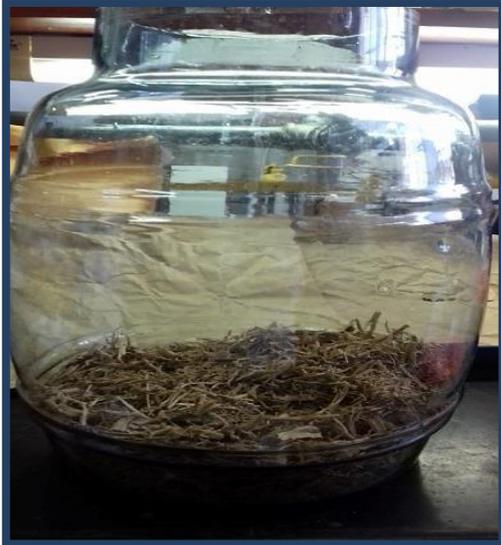


Figura 20. Proceso de maceración etanólica de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.



Figura 21. Filtración de la maceración de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.



Figura 22. Extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.



Figura 23. Evaporación del extracto etanólico de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. “Chuillur”.



Figura 24. Extracto seco de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".



Figura 25. Preparación de los tratamientos con el extracto seco de la raíz de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".



Figura 26. Aclimatación y separación al azar de los ratones *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB en los diferentes grupos investigados.



Figura 27. Manejo del material biológico para inducción de los tratamientos con ratones.



Figura 28. Modelo de contorsiones inducidas por ácido acético al 0,8 %, por vía intraperitoneal (I.P.)



Figura 29. Administración de los tratamientos por vía oral en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB.



Figura 30. Observación y cuantificación de las contorsiones abdominales en ratones *Mus musculus* de los grupos experimentales.