



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTINOCICEPTIVA DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LOS BULBOS DE
*ELEUTHERINE LATIFOLIA***

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA**

PRESENTA:

DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

DIRECTORAS:

**DRA. CLAUDIA VELÁZQUEZ GONZÁLEZ
DRA. MIRANDELI BAUTISTA ÁVILA**

SAN AGUSTÍN TLAXIACA, HIDALGO

OCTUBRE 2021



19 de agosto de 2021

AAFT/01/2021

Asunto: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por medio del presente, le informo que el Jurado asignado al Pasante de la Licenciatura en Farmacia **Diego Hernández Hernández** con número de cuenta 339491, después de revisar el documento preliminar de la tesis denominada: "**Evaluación de la actividad antinociceptiva del extracto etanólico de los bulbos de *Eleutherine latifolia***", ha decidido autorizar la impresión de esta tesis.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

Nombre	Firma
Presidente Dra. Minarda De la O Arciniega	
Secretario Dra. Mirandeli Bautista Ávila	
Vocal Dra. Claudia Velázquez González	
Suplente M. en C. Elena Guadalupe Olvera Hernández	

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
 "AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

M.C. ESP. ADRIÁN MOYA ESCALERA
 DIRECTOR DEL ICsA



M. EN C. ELENA GUADALUPE OLVERA HERNÁNDEZ
 JEFA DEL ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA

Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n
 Carretera Pachuca Actopan, San Agustín
 Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160
 Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4327,4328
 farmacia@uaeh.edu.mx



El presente trabajo se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Investigación del Área Académica de Farmacia del Instituto de Ciencias de la Salud y del Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, los resultados reportados en este trabajo se obtuvieron de un proyecto de investigación realizado en las asignaturas de Farmacognosia y Diseño Experimental.

Los resultados de este trabajo se presentaron en:

XXVIII Congreso de Educación Química Farmacéutica Biológica y la XXIV Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia. 26, 27 y 28 de febrero del 2020. Cartel: Evaluación de la toxicidad aguda de "*talapachijtli*". Se obtuvo el Tercer Lugar en el concurso de carteles. Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo.

15ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales. 22 al 25 de mayo del 2019. Cartel: Evaluación del efecto antinociceptivo de "*talapachijtli*". San Luis Potosí, SLP Publicado en la Revista Latinoamericana de Química, Suplemento especial 2019, Vol. 47, p 197, ISSN 0370-5943, Edit. MIXIM.

3er Simposio de Investigación en Salud. 9 de noviembre del 2018. Ponencia: "Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto etanólico del bulbo de "*talapachijtli*" en el modelo Writhing". Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis:

A mis papás José Manuel Hernández y Martha Hernández, por todo su esfuerzo y apoyo, por motivarme a seguir adelante, por cuidarme y brindarme todos los consejos para poder lograr mis sueños, siempre me acompañaron en cada meta y me incentivaron a estudiar, por apoyarme en mis viajes para alcanzar mis objetivos en mi formación profesional, los amo y siempre tendré presente sus muestras de amor y cariño.

A mis hermanos. Emmanuel, Elisa, Román y Christopher Fernando. Juntos hemos vivido momentos felices, a pesar de las distancias están cuidándome y me brindan todo su apoyo, porque hacen que todos los días sean especiales y me impulsan a seguir, porque siempre creyeron en mí, juntos celebramos muchos logros este es uno más y todos formamos parte de esta meta alcanzada. Los quiero mucho.

A mis ahijados Luz Sairendy y Jeremy, a mi sobrino Ulises, por formar parte de nuestras vidas, por ser la próxima generación de la familia Tepextitla.

A mis abuelitos, Diego Nicolás Tepextitla, Josefa, Fernando y María Luisa. Por todas las muestras de amor y apoyo, por cuidarme y siempre hacerme sonreír, por enseñarme la lengua nahuatl por transmitirme los conocimientos de la medicina tradicional de la región.

A mis padrinos, Melesio y Angélica, a mis hermanos. Angie, Nicolás y Fátima, por todo el apoyo que me dieron para poder culminar esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, porque estoy seguro que siempre nos guía, por la maravillosa familia en la que me permitió nacer, por brindarme la oportunidad de lograr mis objetivos en la vida, por los momentos felices y los días de aprendizaje porque gracias a su amor y rigurosidad he podido conocer magnificas personas, que hoy en día más que amigos son familia.

Agradezco de manera muy especial a la Dra. Claudia Velázquez González y a la Quím. Mirna Elizabeth Ruíz Anaya, por todo el apoyo desde el inicio de la carrera, por los maravillosos días en clase, por su esfuerzo y dedicación, por los consejos y motivación para seguir en la investigación, con ustedes los días de clases son momentos de imaginación y amor al aprendizaje. Gracias por el cariño, son excelentes personas y ejemplos a seguir en la vida, en la docencia y en la investigación, aunque pasen los años siempre las recordaré con aprecio y cariño.

Gracias Dra. Minarda, Dra. Ana Luisa, Dra. Mirandeli, Dr. Raúl Camacho, MSP. Josefina, M. en C. Elena, M. en C. Mayela, MAH. Liliana Maye, excelentes docentes que siempre me apoyaron y aconsejaron en la carrera.

Al Ing. Daniel Ramírez Rico, Director del Bioterio de la UAEH, Dras. Fabiola y Bárbara y Dr. Alejandro, por los animales proporcionados para este proyecto.

Agradezco a Marcos Olvera, Lourdes Prudencio, Jazmín Quezada, Mireya López, Pedro Lagarroití, Jennifer Fernández, Jareth Trejo, Mary Cristy, Dra. Thania, M. en C. Miguel, LF. Zuleyma por su amistad y apoyo en cada proyecto.

Gracias a todos los que forman parte de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y al Área Académica de Farmacia por su esfuerzo en la formación del profesional Farmacéutico.

“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico; es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas”

Marie Curie (1867 – 1934)

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	7
ABREVIATURAS.....	8
RESUMEN.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. ANTECEDENTES.....	13
2.1 Percepción del dolor.....	13
2.1.1 Sensibilización periférica.....	14
2.1.2 Sensibilización central.....	15
2.2 Mecanismo de activación y modulación de nociceptores.....	15
2.3 Clasificación del dolor y sus características.....	17
2.3.1 Dolor nociceptivo.....	17
2.3.2 Dolor Inflamatorio.....	17
2.3.3 Dolor neuropático.....	17
2.4 Escala de dolor de la OMS.....	17
2.5 Mecanismos de acción y reacciones adversas.....	18
2.5.1 Analgésico.....	18
2.5.2 Antiinflamatorios no esteroideos.....	19
2.5.3 Opioides.....	19
2.6 La medicina herbolaria y su investigación en México.....	20
2.7 Descripción de la región Huasteca.....	21
2.7.1 Sitio de recolección de <i>E. latifolia</i>	21
2.7.2 Uso de especies vegetales en la región Huasteca.....	22

2.7.3	Plantas utilizadas para aliviar el dolor.	23
2.8	<i>Eleutherine latifolia</i>	24
2.8.1.	Información de la especie <i>Eleutherine latifolia</i>	24
2.8.2	Sitio de distribución	25
2.8.3	Descripción botánica.	25
2.8.4	Uso medicinal.	26
2.8.5	Estudios químicos y farmacológicos.	26
2.8.6	Estudios químicos y farmacológicos de especies pertenecientes al género <i>Eleutherine</i>	26
III.	JUSTIFICACIÓN.	34
IV.	HIPÓTESIS.	35
V.	OBJETIVOS.	35
5.1	Objetivo General.	35
5.2	Objetivos específicos.	35
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS.	36
6.1	Recolección del material vegetal.	36
6.2	Identificación botánica.	36
6.3	Operaciones preliminares previas a la obtención del extracto.	36
6.4	Obtención del extracto.	36
6.5	Evaluación de la actividad farmacológica del extracto crudo.	37
6.5.1	Material vegetal utilizado.	37
6.5.2	Animales de experimentación.	37
6.5.3	Modelo writhing.	37
6.5.4	Evaluación del efecto antinociceptivo con el modelo de writhing.	38
6.5.5	Prueba de toxicidad aguda por vía oral.	40

6.6	Análisis de resultados.	40
6.7	Cromatografía en capa fina.	41
6.8	Pruebas fitoquímicas.	42
6.9	Fraccionamiento del extracto crudo.	42
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
7.1	Análisis de las características morfológicas de la planta.	44
7.2	Rendimiento del extracto.	45
7.3	Resultados de efecto antinociceptivo del extracto etanólico del bulbo de <i>E. latifolia</i>	45
7.4	Resultados de la evaluación de toxicidad.	48
7.5	Metabolitos identificados con reveladores.	48
7.6	Metabolitos identificados con pruebas fitoquímicas.	48
VIII.	CONCLUSIÓN	50
IX.	RECOMENDACIONES	51
X.	BIBLIOGRAFÍA	52
XI.	ANEXOS.	60
11.1	Análisis estadístico de los datos de las pruebas biológicas en el programa de GraphPad Prims 8.0.1	60
11.1.1	Análisis estadístico del extracto etanólico del bulbo de <i>Eleutherine latifolia</i> en modelo de dolor writhing, resultados de la prueba ANOVA.	60
11.1.2	Análisis estadístico del extracto etanólico del bulbo de <i>Eleutherine latifolia</i> en modelo de dolor writhing. Prueba Tukey.	61
11.1.3	Análisis estadístico de <i>Eleutherine latifolia</i> en modelo de dolor writhing prueba de área bajo la curva.	61
11.2	Materiales utilizados para el modelo de dolor writhing.	62
11.2.1	Materiales y reactivos.	62

11.2.2 Equipo.....	62
11.3 Materiales utilizados para la prueba de toxicidad.	62
11.3.1 Materiales y reactivos.....	62
11.3.2 Equipo.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Percepción del dolor (tomado de RIE, 2018).	13
Figura 2. Escala para tratamiento de dolor, (tomado de Katzung, 2013).	18
Figura 3. Sitio de recolección, Xiquila, Huejutla, Hidalgo (tomado de INEGI, 2009).	22
Figura 4 <i>Eleutherine latifolia</i> (fuente propia).	24
Figura 5. Compuesto aislados del bulbo de <i>E. americana</i>	28
Figura 6. Compuestos aislados de los bulbos de <i>E. americana</i> (continuación) ...	29
Figura 7. Compuestos aislados de los bulbos de <i>E. bulbosa</i>	30
Figura 8. Compuestos aislados de los bulbos de <i>E. bulbosa</i> (continuación).....	31
Figura 9. Compuestos aislados de los bulbos de <i>E. palmifolia</i>	32
Figura 10. Compuestos aislados de los bulbos de <i>E. plicata</i>	33
Figura 11. Procedimiento de la prueba en modelo writhing.	39
Figura 12. Fraccionamiento del extracto crudo por partición.	43
Figura 13. <i>E. latifolia</i> (fuente propia).....	44

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Principales mediadores del dolor.	16
Tabla 2. Plantas medicinales para tratamiento de dolor en la región Huasteca. ...	23
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>E. latifolia</i>	24
Tabla 4. Sistemas de elución.	41
Tabla 5. Resultados de la toxicidad aguda.	48
Tabla 6. Metabolitos identificados.	49

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Página

Gráfica 1. Uso de las plantas en la región Huasteca del estado de Hidalgo (Hernández Martínez, 2013).	23
Gráfica 2 Curso temporal del efecto antinociceptivo.....	45
Gráfica 3 Área Bajo la Curva.....	46

ABREVIATURAS

AcOEt:	Acetato de etilo.
AINES:	Antiinflamatorios no esteroideos.
AMETD:	Asociación Mexicana para el Estudio y Tratamiento de Dolor.
ABC:	Área bajo la curva
CCPEP:	Core Curriculum for Professional Education in Pain.
CICUAL:	Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.
COX:	Ciclooxigenasa.
DL ₅₀ :	Dosis letal 50.
EtOH:	Etanol.
GMPc:	Guanosín monofosfato cíclico.
IASP:	International Association for the Study of Pain.
IG.	Intragástrica
IL:	Interleucina.
IMEPLAN:	Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales.
Kg:	Kilogramo.
LT:	Leucotrienos.
mbar:	Milibar.
mL:	Mililitro.
mmHg:	Milímetro de mercurio.
OECD:	Organization for Economic Cooperation and Development.
OMS:	Organización Mundial de la Salud.
PG:	Prostaglandina.
TNF α :	Tumor necrosis factor-alpha.
UV:	Ultravioleta.

RESUMEN

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define al dolor como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial. En la medicina alopática los antiinflamatorios no esteroideos son los principales medicamentos utilizados para el tratamiento del dolor, sin embargo, en las zonas rurales del estado de Hidalgo las personas utilizan la medicina herbolaria como tratamiento alternativo.

Eleutherine latifolia es una especie vegetal conocida como “talapachijtlí” es utilizada por los pobladores de la comunidad de Xiquila de la región Huasteca del estado de Hidalgo para el tratamiento del dolor, hemorragias menstruales y diabetes.

Para validar el uso tradicional de *E. latifolia* para el tratamiento del dolor, se realizó la evaluación del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos, utilizando el modelo de dolor visceral writhing en ratones CD1 macho, la dosis evaluada fue 300 mg/kg vía intragástrica (IG), encontrándose que disminuyó las contracciones abdominales de los ratones en un porcentaje de inhibición del 58.14 %.

Para determinar la seguridad del extracto etanólico se llevó a cabo la evaluación de la toxicidad aguda en ratones CD1 hembra, a dosis de (30, 300 y 3000 mg/kg) por vía IG, se encontró que los ratones no presentaron mortandad ni alteraciones morfológicas significativas en órganos internos.

Se realizaron pruebas fitoquímicas del extracto donde se observó la presencia de metabolitos de tipo terpeno, polifenol y alcaloide.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial, se considera que el dolor es una experiencia personal, influenciada en diversos grados por factores biológicos, psicológicos y sociales, aunque usualmente cumple una función adaptativa, puede tener efectos adversos sobre la funcionalidad y el bienestar social y psicológico (IASP, 2020). Su tratamiento debe enfocarse con el conocimiento previo de la etiología del dolor, su fisiopatología, tratando de determinar si su solución es farmacológica o quirúrgica y si se trata de un dolor agudo o crónico ya que esto permitirá indicar un tratamiento personalizado, entre los medicamentos actuales se encuentra el grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y el de los opioides (Vergel Rivera, 2009).

Los AINEs son un grupo farmacológico utilizado para tratar la inflamación, el dolor y la fiebre conformado por los salicilatos, paraaminofenoles, pirazonas, ácidos propionicos, ácidos acéticos y oxicams, son fármacos de gran importancia por encontrarse entre los de mayor consumo a nivel mundial (Vergel Rivera, 2009). El mecanismo de acción de este grupo de fármacos que participa en el alivio del dolor, consiste en la inhibición de la ciclooxigenasa (COX 1 y COX 2) de manera que impiden la síntesis de distintos eicosanoides (prostaglandinas y tromboxanos) a partir del ácido araquidónico. Sin embargo, es de destacarse la presencia de reacciones adversas que se caracterizan por inducir un número elevado de alteraciones y lesiones gastrointestinales, renales y del metabolismo hidroelectrolítico que a corto y a largo plazo repercuten tanto en la calidad de vida de los pacientes, como en los servicios de salud (Nuñez Cámara, 2001).

Los analgésicos opioides son únicos por que pueden disminuir aspectos sensoriales de la experiencia dolorosa, se clasifican como agonistas fuertes, parciales, débiles y antagonistas, agonistas-antagonistas mixtos. Los opioides producen analgesia por unión a receptores μ , K y δ acoplados a proteína G específicos que se localizan en el cerebro y la médula espinal, disminuyen el AMP-cíclico intracelular inhibiendo la Adenilato ciclasa, una enzima que modula la liberación de neurotransmisores

nociceptivos como la sustancia P, el GABA o la dopamina, involucrados en la transmisión y regulación de los estímulos dolorosos. Sin embargo, al igual que los AINEs el uso de opioides presentan reacciones adversas que incluyen depresión respiratoria, estreñimiento y dependencia (Katzung, 2013).

Tomando como referencia las reacciones adversas que se presentan durante el uso de AINEs y opioides es importante realizar investigaciones para la búsqueda de nuevos tratamientos que resulten eficaces y seguros para el alivio del dolor.

Las plantas medicinales juegan un papel importante en la salud humana, la medicina herbolaria incluye a un gran número de sustancias extraídas de plantas, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 80 % de la población mundial sigue utilizando la herbolaria para procurar su salud y en algunas zonas rurales e indígenas son el único recurso del que disponen (OMS, 2013; INECOL, 2015; Carrillo E, Lara C & Ruíz M, 2010; Molina M, 2012).

Dado que México se encuentra en una de las 6 regiones mundiales de alta diversidad con respecto al registro taxonómico de las plantas medicinales nuestro país ocupa el segundo lugar a nivel mundial con 4,500 especies documentadas. La Secretaría de Salud estima que el 90 % de la población ha utilizado la medicina herbolaria por lo menos una vez en su vida (OVIS, 2019; DGCS UNAM, 2017).

La medicina tradicional vigente entre los grupos étnicos de nuestro país constituye una herencia del conocimiento de las plantas medicinales, a pesar de que en diversas regiones del país se emplea la herbolaria para el alivio del dolor, las plantas son poco reconocidas debido a que se encuentran en poblados lejanos a las zonas urbanas, limitando la investigación y validación de potenciales terapéuticos (Moreno P & Narvaéz G, 2020).

Las plantas medicinales de la región Huasteca del estado Hidalgo, conforman un modelo terapéutico que en la actualidad sigue atendiendo la gran demanda de la

población indígena y rural como medicina alternativa para el tratamiento del dolor (Hernández-Martínez, 2013).

La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM), en su primera edición menciona al menos 35 especies de plantas para el alivio de diferentes tipos de dolor, es un hecho que se conocen plantas con propiedades analgésicas, sin embargo, los estudios farmacológicos y químicos que validen el potencial terapéutico son escasos y estos son requeridos para aprobar su uso eficaz y seguro en la medicina tradicional mexicana, cabe reconocer que las plantas son una fuente de sustancias químicas con potencial analgésico y antiinflamatorio como opción para desarrollar medicamentos destinados al alivio del dolor (Moreno P & Narvaéz G, 2020).

En las últimas décadas el estudio de las plantas medicinales, ha permitido encontrar nuevas moléculas con actividad biológica, por lo tanto, se deberán instrumentar y/o fortalecer los mecanismos nacionales que promuevan la investigación sobre la eficacia y seguridad de la medicina complementaria en búsqueda de nuevos fármacos (Rivas Morales & Oranday Cárdenas, 2016; Almaguer González, 2009).

En este trabajo se llevó a cabo la evaluación del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* utilizando el modelo de writhing, se evaluó también la seguridad del extracto utilizando la prueba de toxicidad aguda por vía intragástrica en ratones CD1. Los protocolos de trabajo se llevaron a cabo siguiendo los lineamientos del CICUAL y el 423 de la OECD.

Este estudio permite contribuir al conocimiento científico de la especie *E. latifolia* tradicionalmente conocida como “cocomite y talapachijtli” la cual es utilizada para el alivio del dolor por los pobladores de la comunidad de Xiquila, en Huejutla, Hidalgo.

II. ANTECEDENTES

2.1 Percepción del dolor

El dolor es una patología prevalente en la población en general, que adquiere especial relevancia por sus implicaciones socioeconómicas (Vicente Herrero & Delgado Bueno, 2018).

La percepción del dolor se lleva a cabo en 4 etapas (Ferrandiz Mach, 2016) como se muestra en la Figura 1.

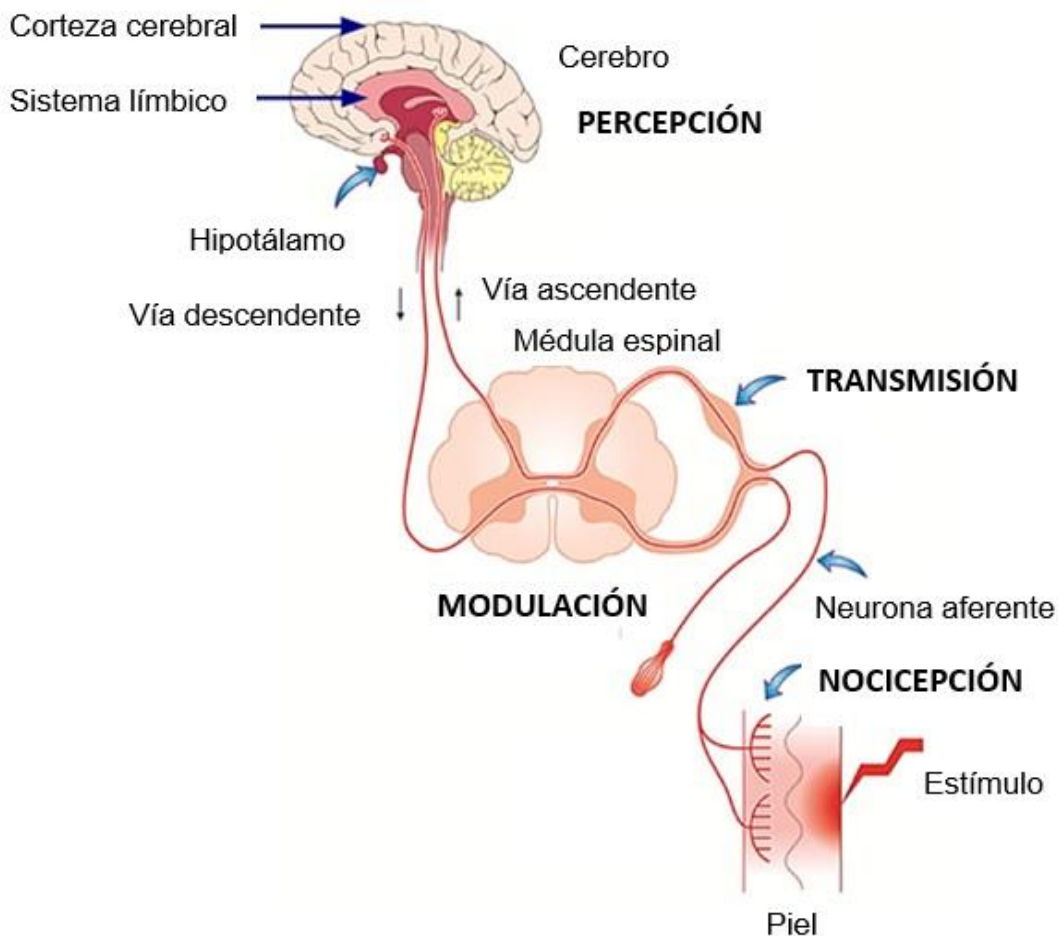


Figura 1. Percepción del dolor (tomado de RIE, 2018).

La transducción de estímulos es un proceso mediante el cual un estímulo ambiental activa a un receptor y se convierte en energía eléctrica (Ferrandiz Mach, 2016).

Transmisión del dolor: Los nociceptores transforman los estímulos que reciben en potenciales de acción a través de las fibras aferentes sensoriales primarias y de ahí a la asta medular superior, iniciando desde el sistema periférico, seguido por la medula espinal que llega hasta el cerebro, en donde intervienen 3 tipos de neuronas dispuestas en serie (Ferrandiz Mach, 2016).

Fibras nerviosas aferentes primarias: primera neurona de las vías de transmisión del dolor (piel, músculos, vísceras).

Nociceptores *A-delta*: mecánicos de alto umbral (pinchazos).

Nociceptores *C*: mecánicos, térmicos, químicos.

Fibras nerviosas aferentes secundarias: neuronas espinales de la sustancia gris de la asta-posterior.

Mecanismo tálamo – corticales: neuronas de tercer orden y se encuentran a nivel supraespinal (Ferrandiz Mach, 2016).

Modulación: Los estímulos nociceptivos activan a la vez mecanismos encargados de la modulación inhibitoria tanto a nivel periférico, como espinal y supraespinal (Ferrandiz Mach, 2016).

Percepción: Procesamiento del estímulo nociceptivo en centros superiores, como el tálamo (Ferrandiz Mach, 2016).

2.1.1 Sensibilización periférica

El proceso de detección, transmisión e interpretación del dolor agudo se debe a un circuito ciertamente reducido de neuronas. Una primera neurona denominada nociceptor detecta estímulos potencialmente nocivos y los trasmite desde donde se genera hasta la médula espinal, llega al sistema nervioso central, penetra a

través del tálamo y se distribuye por el encéfalo llegando a núcleos que aportarán el componente afectivo al dolor como es el tálamo, sistema límbico y la amígdala que informarán al paciente de la localización y la intensidad del dolor (Goicoechea García, 2016; Ferrandiz Mach, 2016).

2.1.2 Sensibilización central

La sensibilización central es un incremento en la excitabilidad de las neuronas del sistema nervioso central, quienes se encargan de transmitir hacia el encéfalo información aferente que alcanza la médula espinal por medio del sistema. En un estado de sensibilización central las neuronas hiperexcitables se activan con mayor facilidad ante la entrada de señal nociceptiva periférica que tienden a amplificar la transmisión de información nociceptiva hacia centros superiores. La sensibilización central se manifiesta a través de dolor espontáneo o persistente, ampliación de los campos receptivos de las neuronas nociceptivas medulares, así como de hiperalgesia o alodinia (Azkue, Ortiz, Torre, & Aguilera, 2019).

2.2 Mecanismo de activación y modulación de nociceptores

El estímulo doloroso libera sustancias que estimulan las fibras sensoriales periféricas entre ellas iones H^+ y K^+ , aminas (serotonina, noradrenalina), histamina, eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos) y citocinas (Leon, Wu Pong, & B.C. Yu, 2005).

A nivel periférico los diferentes estímulos nociceptivos activan simultáneamente mecanismos excitatorios e inhibitorios que determinan las características de la señal dolorosa que alcanza la asta dorsal medular (Ferrandiz Mach, 2016; Jalil, 2017; Costigan & Woolf, 2000).

Los principales mediadores del dolor se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales mediadores del dolor.

Sustancia	Descripción
Hidrogeniones y potasio	Cumple funciones de despolarización rápida y mantienen la fibra álgica.
Serotonina	A nivel periférico activa las fibras nociceptivas y a nivel central, participa más en la modulación inhibitoria del dolor.
Noradrenalina	Se localiza sobre la médula y otros centros superiores, participa en la modulación inhibitoria del dolor.
Histamina	Tiene efectos inmediatos, la contracción del musculo liso, dilatación arteriolar y el aumento de la permeabilidad vascular e incluso producir dolor.
Óxido nítrico	Radical libre que parece estar implicado en la nocicepción tanto a nivel periférico, como central. El sistema óxido nítrico/GMPc parece estar implicado en la analgesia inducida por AINEs, opioides y anestésicos locales.
Bradicinina	Estimula nociceptores por mecanismo calcio dependiente, en la que se activa la fosfolipasa A2 y se sintetizan PG.
Prostaglandinas y eicosanoides	Intervienen en la sensibilización de los receptores u otros mediadores, las prostaglandinas y estimulan al endotelio y promueven la salida de los leucocitos del espacio vascular, fenómeno conocido como diapedesis.
Citocinas	Las interleucinas, el Factor de Necrosis Tumoral o los interferones, estimulan los nociceptores de forma indirecta, al activar la síntesis y liberación de prostaglandinas.
Sustancia P	Una vez liberada en las terminaciones periféricas de los nociceptores produce vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar y aumento de la producción y liberación de mediadores inflamatorios.

2.3 Clasificación del dolor y sus características

2.3.1 Dolor nociceptivo

Producido por la estimulación breve de los nociceptores de la piel y de otros tejidos en ausencia de daño tisular se considera una sensación protectora que es necesaria para la supervivencia y el bienestar del individuo, es subclasificado de acuerdo con la localización de la lesión que lo produce en somático o visceral (Carrillo Munguía, 2007).

2.3.2 Dolor Inflamatorio

Involucra un daño tisular, presiones intensas que ocasionan isquemia, quemaduras, frío intenso y lesiones químicas, se inicia cuando las células dañadas activan mediadores químicos e inmunológicos (Carrillo Munguía, 2007).

2.3.3 Dolor neuropático

Se produce por estímulo directo del sistema nervioso central o por la lesión de vías nerviosas periféricas. Se describe como punzante, quemante acompañada de persistencias y disestesias, hiperalgesia, hiperestesia y alodinia (Covarrubias Gómez, Guevara López, Cantú Brito, & Nuche Cabrera, 2015).

2.4 Escala de dolor de la OMS

Es un método secuencial farmacológico que utiliza un pequeño número de medicamentos con eficacia ampliamente demostrada y seguridad probada para el tratamiento del dolor, Figura 2 (Aria, 2013; Katzung 2013).

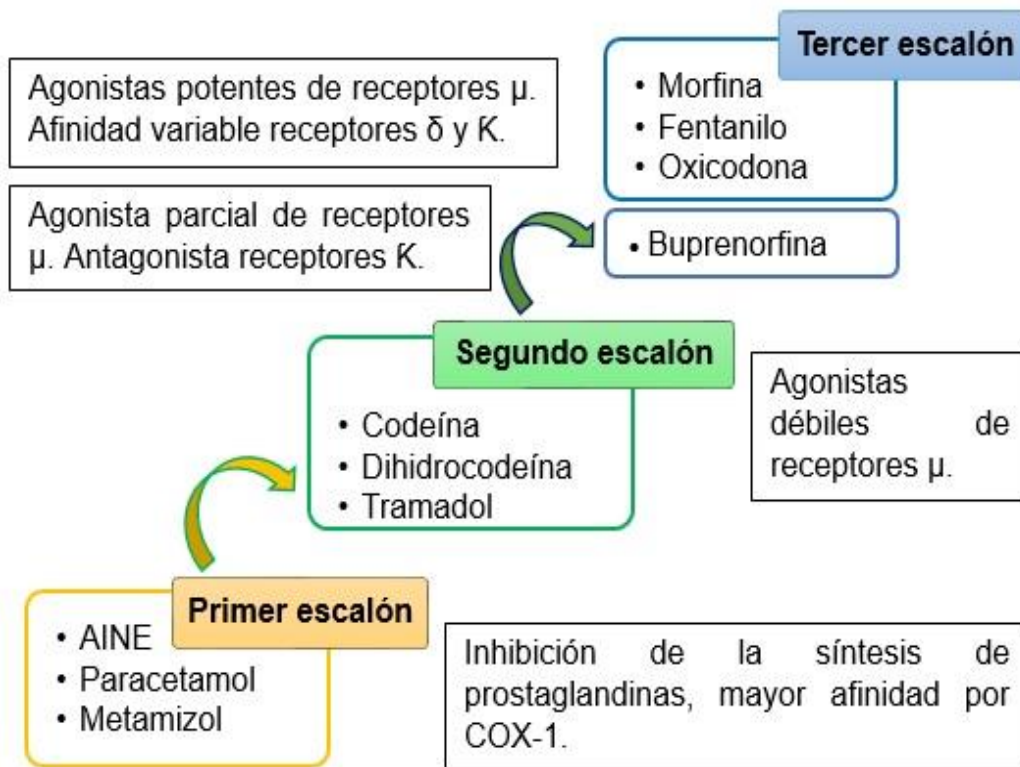


Figura 2. Escala para tratamiento de dolor, (tomado de Katzung, 2013).

2.5 Mecanismos de acción y reacciones adversas

2.5.1 Analgésico

Paracetamol: metabolito activo de la fenacetina inhibidor débil de la COX-1 y COX-2 de tejidos periféricos sin efectos antiinflamatorios significativos, bloquea la generación del impulso doloroso a nivel periférico. Actúa sobre el centro hipotalámico regulador de la temperatura. RAM: aumento de las enzimas hepáticas, mareo, excitación y desorientación (Katzung 2013).

2.5.2 Antiinflamatorios no esteroideos

Inhibidores no selectivos de la COX

Ácido acetilsalicílico: Presenta actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética al inhibir de forma irreversible a la ciclooxigenasa reduciendo la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico que da lugar a la analgesia central, periférica y efecto antiagregante plaquetario. RAM: intolerancia gástrica, úlceras gástricas y duodenal (Katzung 2013).

Diclofenaco, Flurbiprofeno, Ibuprofeno, Indometacina, Naproxeno, Piroxicam: Tienen la mediación sobre todo de la inhibición de la COX y biosíntesis de prostaglandinas inhiben de modo eficaz la inflamación y el dolor, RAM: toxicidad renal y daño gástrico (Katzung 2013).

Inhibidores selectivos de la COX-2

Celecoxib y meloxicam: Se unen al sitio activo de la enzima COX-2 y la bloquean con mayor eficacia que a la COX-1. Los inhibidores de COX-2 tienen efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios similares a los de los AINEs no selectivos, pero con aproximadamente la mitad de los efectos adversos gastrointestinales. RAM: infarto al miocardio, accidente vascular encefálico, tromboembolismo venoso, hipertensión y falla cardíaca (Vergara Salazar, 2017).

2.5.3 Opioides

Agonistas potentes.

Morfina, heroína, metadona y fentanilo: Actúan principalmente sobre los receptores μ y afinidad variable por receptores δ y κ . RAM: depresión respiratoria, estreñimiento intenso, convulsiones (Katzung 2013).

Agonistas parciales.

Codeína, dihidrocodeína, oxicodona: agonistas débiles de receptores μ , δ y κ .
RAM: estreñimiento (Katzung 2013).

Agonistas – antagonistas

Nalbufina: agonista fuerte de receptores κ y antagonista de receptores μ . RAM:
depresión respiratoria (Katzung 2013).

Buprenorfina: agonista parcial del receptor μ y antagonista del receptor κ . RAM:
depresión respiratoria (Katzung 2013).

Pentazocina: agonista del receptor κ y antagonista débil o parcial del receptor μ .
RAM: hipertensión y convulsiones (Katzung 2013).

Otros

Tramadol: analgésico de acción central, actúa en el bloqueo de la recaptación de serotonina e inhiben la función del transportador de noradrenalina, también es un agonista opiáceo del receptor μ . RAM: convulsiones, estreñimiento, sequedad de boca y náusea (Katzung 2013).

2.6 La medicina herbolaria y su investigación en México

En el año de 1976 se crea en México el Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales (IMEPLAN) que se dedicó al estudio de la flora en el país, en el caso de la región Huasteca la bibliografía encontrada solo es contemporánea (Hernández Martínez, 2013).

2.7 Descripción de la región Huasteca

La Huasteca es una región multicultural que comprende desde la parte sur del estado de Tamaulipas, el norte de Veracruz, el oriente de San Luis Potosí, el norte de Hidalgo, una porción norte de Querétaro y una parte del norte de Puebla (INAH, 2008).

Entre grandes valles, ríos caudalosos como el Pánuco y montañas en la región Huasteca conviven al menos seis grupos indígenas; los Teneek o Huastecos, nahuas, pames, tepehuas, y otomíes (INAH, 2008).

Se puede observar que entre los grupos indígenas existe una interrelación pese a la afiliación étnica o lingüística, otro factor común entre los pueblos indígenas es su sistema de creencias, el cual es compartido por casi todos en la región. Esto se debe a que el sistema religioso de las etnias es un factor determinante y un motivo principal de convivencia. Por lo tanto, la Huasteca da paso a la multiculturalidad en la región nororiental del país (INAH, 2008).

2.7.1 Sitio de recolección de *E. latifolia*

Xiquila (Figura 3), proviene de la lengua náhuatl xiki-atl, xiki (toma) y atl (agua) “toma agua”. Es una localidad de México perteneciente al municipio de Huejutla de Reyes en el estado de Hidalgo, se encuentra dentro de las provincias de la Sierra Madre Oriental, dentro de la subprovincia del Carso Huasteco; su terreno es de sierra y lomerío. Cuenta con un clima semicálido húmedo con lluvias todo el año. A la localidad le corresponden las coordenadas geográficas 21° 4' 38.36" de latitud norte y 98° 26' 38.244" de longitud oeste, con una altitud de 215 msnm. Se encuentra a una distancia aproximada de 7.11 kilómetros al suroeste de la cabecera municipal, Huejutla (INEGI, 2009).

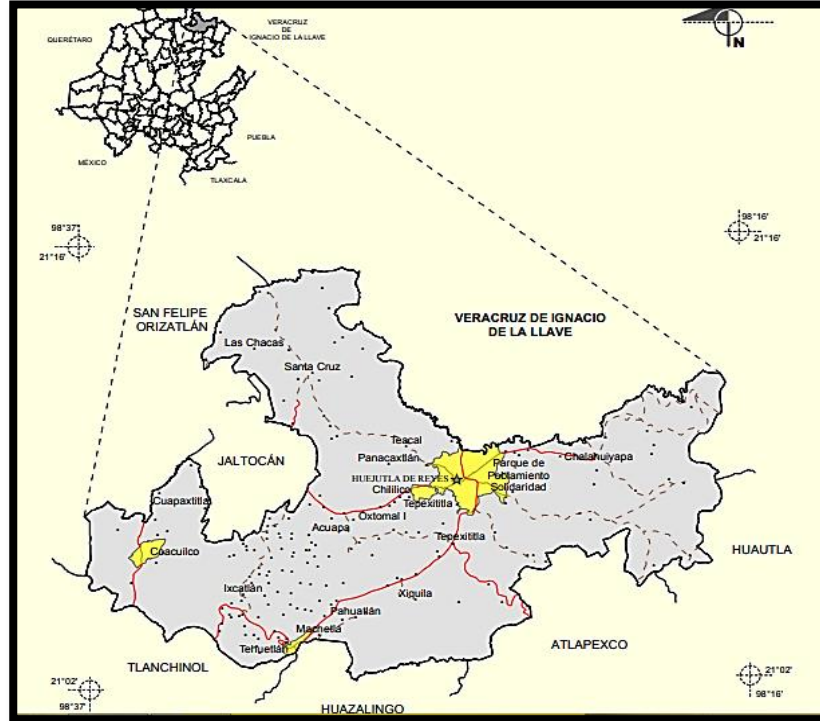
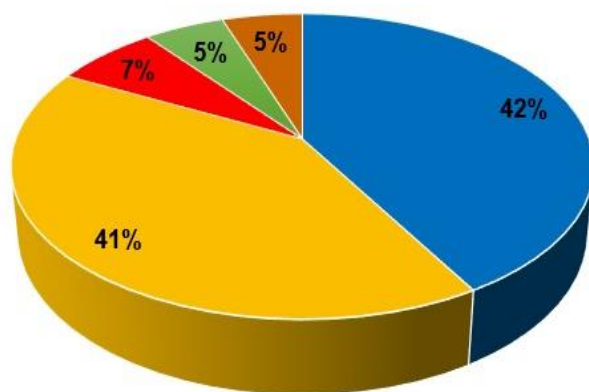


Figura 3. Sitio de recolección, Xiquila, Huejutla, Hidalgo (tomado de INEGI, 2009).

2.7.2 Uso de especies vegetales en la región Huasteca

La Huasteca es una región con una vasta riqueza biocultural en México, investigaciones etnobiológicas aportan información sobre el manejo de la selva secundaria y el sistema agroforestal tradicional (Hernández C, 2016 y Moreno, 2013). Otras investigaciones se han enfocado al estudio de las plantas medicinales y comestibles (Alonso, 2012; Hernández, 2013; Cilia, 2015, Pineda Herrera, 2020).

Las plantas de la región Huasteca del estado de Hidalgo aparte del uso medicinal tienen otros usos, como se muestra en la Gráfica 1: comestibles, combustibles (leña), ornamentales o maderables (Hernández Martínez, 2013).



■ Solo medicinal ■ Comestible ■ Combustible
 ■ Ornamental ■ Maderable

Gráfica 1. Uso de las plantas en la región Huasteca del estado de Hidalgo (Hernández Martínez, 2013).

2.7.3 Plantas utilizadas para aliviar el dolor

En la región Huasteca, se hace referencia a diferentes plantas medicinales para tratar los distintos tipos de dolor (Hernández Martínez, 2013) los cuales se mencionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Plantas medicinales para tratamiento de dolor en la región Huasteca.

Nombre científico	Tipo de dolor
<i>Artemisia ludoviciana</i>	Dolor de oído
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Ness	Dolor de estómago
<i>Dysphania ambrosioides</i>	
<i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	
<i>Costus mexicanus</i>	Dolor de riñón
<i>Cuminum cyminum</i>	Cólicos
<i>Lippia graveolens</i> Kunth	
<i>Euphorbia</i> sp	Dolor de pantorrilla
<i>Hyptis verticillata</i>	Dolor muscular

Es de destacar que *Eleutherine latifolia* no está registrada en el trabajo de Hernández Martínez en 2013, por lo que este trabajo contribuye al registro de otra especie medicinal para el tratamiento de cólicos biliares, renales, estomacales y dolor reumático.

2.8 *Eleutherine latifolia*

2.8.1. Información de la especie *Eleutherine latifolia*

Eleutherine latifolia comúnmente conocida como “cocomite” y “talapachijtli” (Figura 4) es una planta que pertenece a la familia Iridaceae con aproximadamente 3 géneros y 143 especies (CONABIO, 2021). Su clasificación taxonómica se describe en la Tabla 3.



Figura 4 *Eleutherine latifolia* (fuente propia).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *E. latifolia*.

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Orden	<i>Asparagales</i>
Familia	<i>Iridaceae</i>
Subfamilia	<i>Iridoideae</i>
Tribu	<i>Tigridieae</i>
Género	<i>Eleutherine</i>
Especie	<i>Latifolia</i>

Fuente: (UNAM, 2014)

2.8.2 Sitio de distribución

La especie se distribuye en las regiones tropicales de América Central y del Sur, en el Bajío y regiones adyacentes se ha localizado esta especie en bosques tropicales caducifolios, matorrales y más comúnmente en parcelas de cultivo y vegetación secundaria, en el noreste de Guanajuato y el noreste de Querétaro, Alt 250 – 1100 m. Se le ha visto floreciendo de agosto a octubre. Distribuida desde el este de México hasta Honduras. Aparentemente esta especie se ve favorecida por el disturbio, por lo que no presenta problemas de conservación. Específicamente en México se localiza en los estados de: Chiapas, Guanajuato, México, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz e Hidalgo (Espejo Serna, López Ferrari, & Ceja Romero, 2010; CONABIO, 2021).

2.8.3 Descripción botánica

Es una planta de 30 a 40 cm de alto; bulbo subgloboso a ovoide, de 2 a 3.5 cm de largo, de 1.5 a 2.5 cm de diámetro, túnicas rojizas, estriadas, frecuentemente con pruina amarilla, raíces pocas, fibrosas; hojas de dos a cuatro, basales, plegadas,

lineares a linear – lanceoladas, de 15 a 40 cm de largo, de 0.9 a 2.2 cm de ancho, glabras, coriáceas, las nervaduras amarillas, flores de color crema a blanco crema, cápsulas oblongo – cilíndricas a turbinadas 2 cm de largo; semillas amarillentas (Espejo Serna, López Ferrari, & Ceja Romero, 2010).

2.8.4 Uso medicinal

Eleutherine latifolia conocida comúnmente como “talapachijtli”, es empleada por las personas de la comunidad de Xiquila, Huejutla Hidalgo, que utilizan la infusión de los bulbos para el tratamiento de cólicos biliares, renales, estomacales; dolor reumático, diabetes mellitus y hemorragias menstruales (Referido por el Sr. Diego Francisco Hernández, habitante de la comunidad de Xiquila).

2.8.5 Estudios químicos y farmacológicos

Hasta nuestro conocimiento no se encontraron descritos estudios farmacológicos y químicos previos que proporcionen información de la especie *E. latifolia*. Sin embargo, se han descrito estudios de especies pertenecientes al género *Eleutherine*.

2.8.6 Estudios químicos y farmacológicos de especies pertenecientes al género Eleutherine

Eleutherine americana

Hye Y y Su H., en 2008 evaluaron el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de los bulbos de *E. americana* empleando el método de cultivo celular de macrófagos, el cual presentó efecto a concentración de (0 – 40 μ m) al suprimir la enzima óxido nítrico sintasa, encargada de la transcripción del Factor nuclear kappa

B, compuesto aislado fue Isoeleuterina **1** (Hye-Young, Su-Hyun, Ah-Reum, Seoung Woo, & Sang Hyung, 2008).

Wijaya K., en 2010 evaluó la actividad antifúngica del extracto metanólico de los bulbos de *E. americana* mediante ensayos antifúngicos de difusión en agar de *T. mentagrophytes*, a concentración de 80 µg/disco, se identificó la inhibición de hasta 14 mm en el crecimiento del hongo, también llevó a cabo pruebas anticancerígenas empleando células de melanoma B16 e identificó la inhibición del 87 % en la formación de melanina, asignando los efectos al compuesto eleuterina **2** aislado de los bulbos (Wijaya Kusuma, Tangke Arung, & Rosamah, 2010).

Hokaido y Leyama T., en 2011 llevaron a cabo pruebas hipoglucemiantes del extracto metanólico del bulbo de *E. americana* utilizando la prueba de inhibición de α glucosidasa en intestino de ratón se detectó la inhibición de la α glucosidasa en más del 50 %, el efecto fue presentado por el naftaleno aislado, eleuterinosido A **3** (Tomohiro, DPT, & Kawabata, 2011).

Sirirak, en 2011 evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del bulbo de *E. americana*. Para ello utilizó el método de difusión de agar en disco, utilizó 2.5 mg como concentración del extracto que presentó efecto con zonas de inhibición entre 10 – 37 mm del crecimiento de la cepa *Campylobacter spp* (Sirirak & Voravuthikunchai, 2011).

Mei G. y Yang Y., en 2018 realizaron la evaluación protectora del extracto metanólico de los bulbos de *E. americana* utilizando el método MMT *in vitro* a diversas concentraciones (1, 5 y 10 µM) con el cual identificaron efecto protector frente a lesión de células endoteliales de la vena umbilical humana, la actividad biológica se le atribuye a los naftalenos aislados eleuterol A **4**, eleuterol B **5**, eleuterol **6**, eleutinona B **7** y eleutinona C **8** (Mei Gen, Yang Yang, Ron tao, & Men, 2018).

Chen, Sun y Liu., en el 2020 llevaron a cabo la evaluación antimicrobiana del extracto metanólico de los bulbos de *E. americana* utilizando el método de microdilución líquida frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA), encontraron actividad de CMI de 0.78 µg/mL en el crecimiento bacteriano. Del extracto se aislaron dos naftoquinonas eleucanainona A **9** quien presentó el efecto antibacteriano y eleucanainona B **10** (Chen, Sun, & Liu, 2020).

Mahabusarakam y Hemtasin., en 2009 aislaron del extracto hexánico de los bulbos de *E. americana* los compuestos, eleutinona A **11**, eleutraquinona A **12**, eleutraquinona B **13** y eleucanarol **14** (Mahabusarakam, Hemtasin, Chakthong, & Beatrice Olawumi, 2009).

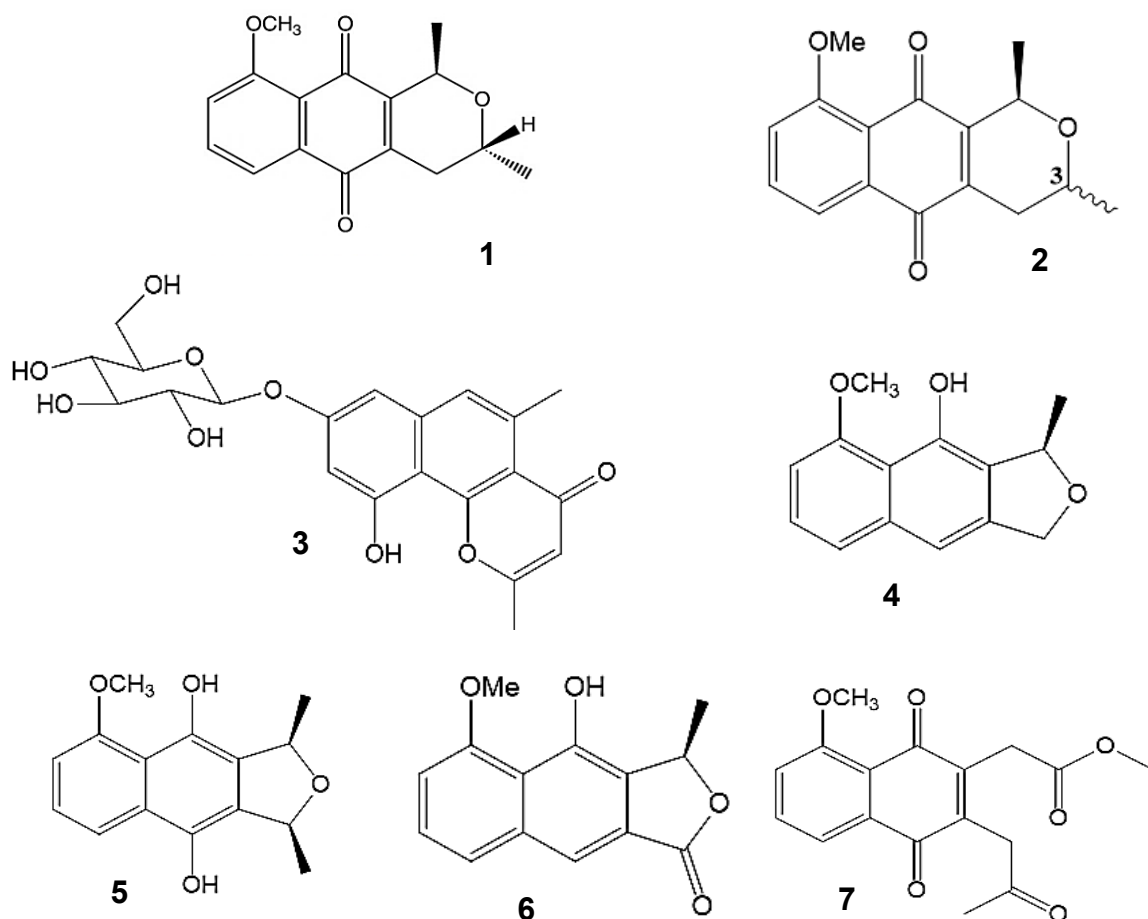


Figura 5. Compuesto aislados del bulbo de *E. americana*

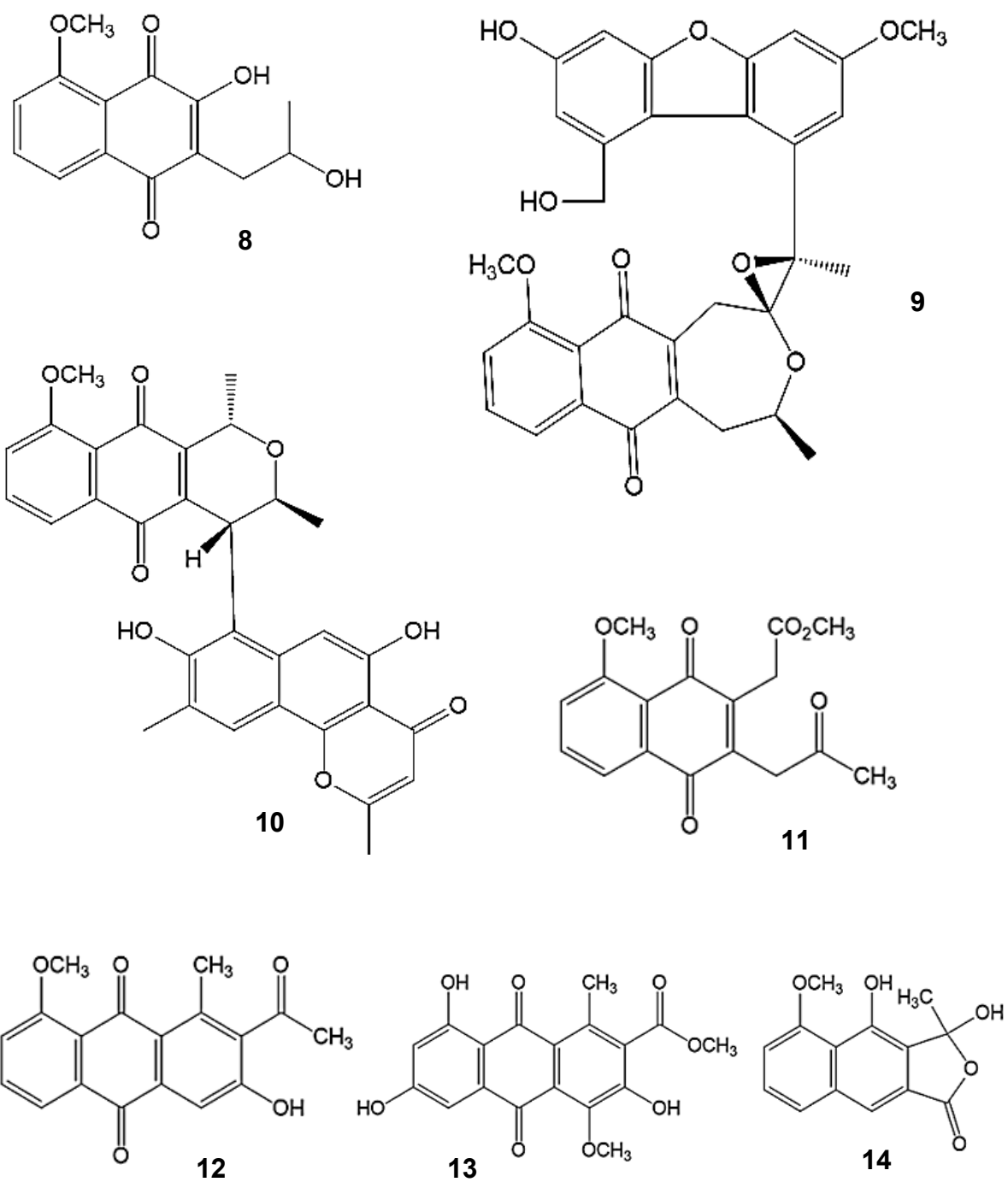


Figura 6. Compuestos aislados de los bulbos de *E. americana* (continuación)

Eleutherine bulbosa

Bianchi C y Ceriotti G., en 1975 realizaron la evaluación antimicrobiana del extracto etanólico del bulbo de *E. bulbosa*, utilizando el método de difusión en placas de agar contra *Bacillus subtilis*, encontrándose que inhibe el crecimiento bacteriano a diversas concentraciones hasta 62.5 µg/mL, el compuesto químico aislado corresponde a eleuterina **2** (Bianchi & Ceriotti, 1975).

Almeida A, Kloos y Leomar., en 2003 realizaron la evaluación antifúngica del extracto de diclorometano de los bulbos de *E. bulbosa* empleando el método de difusión antifungigrama frente a *C. sphaerospermum*, se observaron zonas claras de inhibición del crecimiento, la actividad farmacológica se debe a los compuestos eleuterinona **15**, eleuterol **6** y eleuterina **2** (Almeida Alves, Kloos, & Leomar, 2003).

Gallo R, Palazzino y Lurilli, en 2010 aislaron del extracto etanólico de los bulbos de *Eleutherine bulbosa* los policétidos (R)-4-Hidroxi eleuterina **16**, Eleutona **17**, Eleuterinol-B-O-β-D-Glucósido **18**, Isoeleutosido C **19** (R. Gallo, Palazzino, Federici, & Lurilli, 2010).

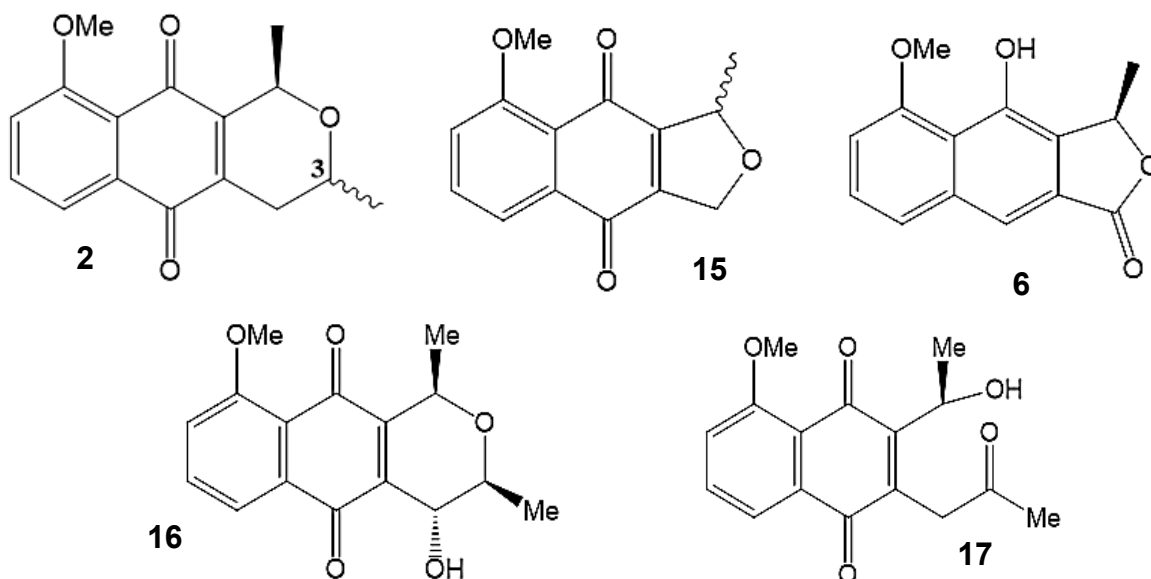


Figura 7. Compuestos aislados de los bulbos de *E. bulbosa*

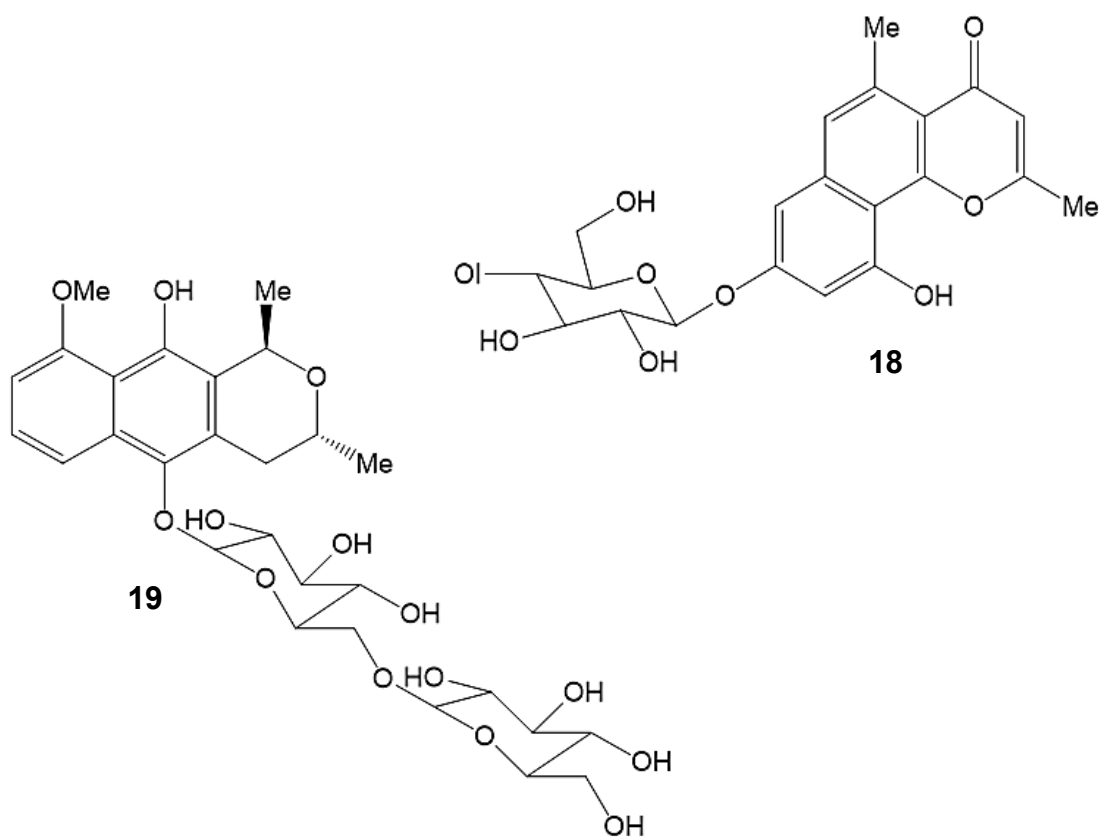


Figura 8. Compuestos aislados de los bulbos de *E. bulbosa* (continuación).

Eleutherine palmifolia

Tahan U y Agus R., en 1997 aislaron del extracto metanólico de los bulbos de *E. palmifolia* los glucósidos, eleutosido A **20**, eleutosido B **21** y eleutosido C **22** (Shibuya, Fukushima, Ohashi, Nakamura, & Kitagawa, 1997).

Masfria M. en 2019 evaluó el efecto antifúngico del extracto hexánico de los bulbos de *E. palmifolia*, mediante el método de difusión utilizando discos, presentó efecto de inhibición de 19.48 mm para *Candida albicans* y 42.20 mm en *Trichophyton mentagrophytes* a concentración de 20 mg/mL (Masfria Masfria & SA Tampubolon, 2019).

Mutiah, en 2020 realizó la evaluación anticancerígena y hepatoprotectora del extracto etanólico del bulbo de *E. palmifolia*, llevó a cabo pruebas en ratones BALB/c en modelo CAC a dosis de 0.50 mg/ 20 g de peso el extracto fue eficaz para proporcionar efecto hepatoprotector contra el estrés oxidativo, antiinflamatorio y antiapoptosis. (Mutiah, Listiyana, Susilowati, & Ambar Sari, 2020).

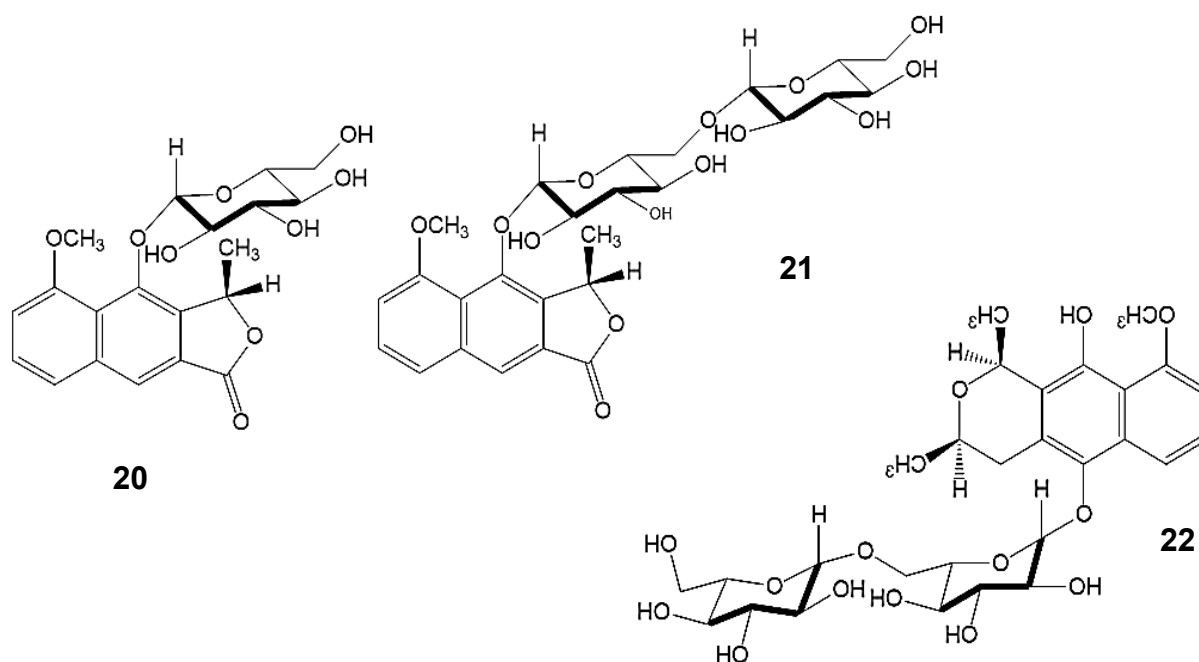


Figura 9. Compuestos aislados de los bulbos de *E. palmifolia*.

Eleutherine plicata

Malheiros, en 2008 evaluó el efecto anti fúngico de la fracción clorofórmica del extracto etanólico de los bulbos de *E. plicata* mediante el método de difusión de agar en disco, a concentración de 500 mg/mL presentó halos de inhibición de hasta 14 mm para *C. albicans* y 15 mm para *S. aureus* el efecto se les atribuye a los compuestos aislados isoeleuterol **23** e isoeleutherina **1**. También evaluó la actividad antioxidante de los compuestos empleando el método de DPPH, en el cual isoeleuterol **23** presentó actividad con una IC₅₀ de 84.63 a concentración de 4 µg/mL (Malheiros, 2008).

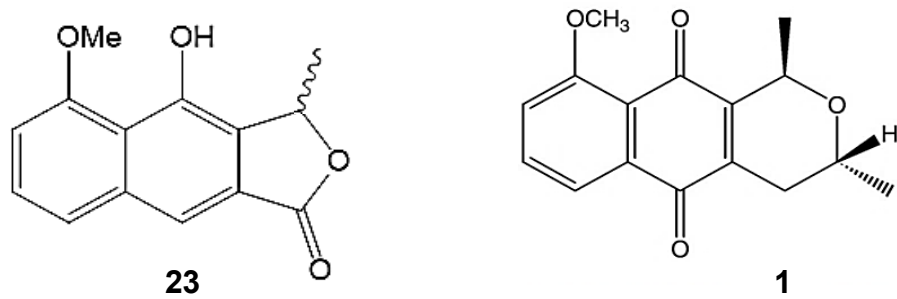


Figura 10. Compuestos aislados de los bulbos de *E. plicata*.

III. JUSTIFICACIÓN

El dolor se encuentra asociado con la mayoría de las enfermedades, por lo tanto, proporcionar tratamiento para su alivio es de suma importancia para mejorar la salud del paciente.

En el estado de Hidalgo los pobladores de las zonas rurales siguen utilizando la medicina herbolaria para el tratamiento del dolor al ser de fácil acceso, menor costo y por haber experimentado mejoría. Sin embargo, muchas de las plantas no cuentan con estudios que validen sus efectos terapéuticos, esto da la pauta para realizar estudios farmacológicos y químicos de las especies vegetales.

Este trabajo contribuirá al conocimiento científico de la especie *E. latifolia*, permitirá validar el conocimiento tradicional de la especie *E. latifolia* de la región Huasteca del estado de Hidalgo, como alternativa para el tratamiento del dolor.

IV. HIPÓTESIS

Los bulbos de *E. latifolia* son utilizadas en la medicina tradicional del estado de Hidalgo para el tratamiento de dolor, por lo que el extracto etanólico de los bulbos presentará actividad antinociceptiva en un modelo de dolor.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* mediante la prueba de writhing en ratones CD1, para validar su efecto farmacológico contra el dolor.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* en el modelo de dolor writhing en ratones CD1.
- Determinar la dosis letal (DL₅₀) del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia*, mediante la prueba de toxicidad aguda, utilizando el protocolo de la OECD en ratones CD1.
- Identificar grupos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia*, mediante pruebas fitoquímicas.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Recolección del material vegetal

Mediante el criterio etnobotánico se realizó la selección de la planta, la colecta fue realizada en la comunidad de Xiquila, Huejutla, Hidalgo, en el mes de junio de 2018, se contó con la colaboración del Sr. Diego Francisco Hernández (habitante de dicha comunidad) para la localización de la planta, quien también proporcionó información del uso medicinal.

6.2 Identificación botánica

La identificación de la especie vegetal se realizó en el Centro de Investigaciones Biológicas de la universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por el M en C. Manuel González Ledesma, con número de Voucher DH001.

6.3 Operaciones preliminares previas a la obtención del extracto

El material vegetal recolectado se dejó una semana en el cuarto de secado a temperatura ambiente, una vez seco se procedió a limpiar el material vegetal de otros elementos y se prosiguió a separar los componentes en hojas, bulbos y semillas; después de fraccionar los bulbos nuevamente se colocaron en el área de secado durante 10 días.

6.4 Obtención del extracto

476.55 g de bulbos secos y fraccionados fueron extraídos por maceración a temperatura ambiente con etanol (3.7 L X 3), la maceración se dejó en el área de secado en el laboratorio de investigación del Área Académica de Farmacia a temperatura ambiente durante una semana.

Posteriormente se eliminó el disolvente utilizando un rotavapor a 45 °C a presión reducida hasta sequedad, el extracto crudo fue almacenado hasta su uso.

6.5 Evaluación de la actividad farmacológica del extracto crudo

6.5.1 Material vegetal utilizado

Se utilizó el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia*, el cual se preparó en el laboratorio de investigación del Área Académica de Farmacia.

6.5.2 Animales de experimentación

Se utilizaron ratones de ambos sexos de la cepa CD1 con peso de 35 – 40 g, n=7. Los ratones fueron proporcionados por el bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud (ICSa) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Los ratones se mantuvieron en condiciones de luz/oscuridad de 12 horas a una temperatura de 24 °C y control de humedad relativa de 45 %, con alimento y agua *ad libitum*. 12 horas previas a la experimentación se les privó de alimento. Los protocolos de trabajo se llevaron a cabo siguiendo los lineamientos del CICUAL y de la NOM-062-ZOO-1999, sobre el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Al finalizar el estudio los roedores fueron sacrificados en la cámara de eutanasia mediante administración inhalatoria de dióxido de carbono (CO₂).

6.5.3 Modelo writhing

Este modelo fue desarrollado en los años 50' s por Carroll y Lim en 1958, tiene como fundamento estimular el efecto antinociceptivo periférico en dolor de tipo visceral, inducido químicamente, consiste en la inyección intraperitoneal de un irritante químico (ácido acético), seguido por el recuento de las contorsiones o

estiramientos de los ratones en un periodo de tiempo. El modelo se ha utilizado como herramienta de cribado para evaluar la actividad antinociceptiva central y periférica (Robles Pizarro, Tarqui Cabrera, & Rodriguez Collazos, 2014).

En esta prueba los ratones reciben una inyección intraperitoneal de una solución de ácido acético al 0.6 % (Gutiérrez Aguilera & Guerra Miranda, 2002). Lo que provoca un comportamiento caracterizado por contracciones abdominales involuntarias, torsión de los músculos dorso abdominal de los ratones (Villanueva Solís & Zapata Morales, 2016).

6.5.4 Evaluación del efecto antinociceptivo con el modelo de writhing

Para la prueba se utilizaron ratones macho cepa CD1 con un peso entre 35 – 40 g, con una n=7 para cada lote. Los animales fueron privados de alimento 12 horas antes del experimento y se les permitió agua *ad libitum*.

Previamente a la prueba biológica los ratones fueron pesados en una balanza granataria y se marcaron para su identificación. Se separaron en diferentes lotes: lote 1 control negativo (tween 80 al 1 %), lote 2 control positivo (indometacina) y lote 3 extracto a evaluar. Posteriormente a los ratones se les administró por vía intragástrica los tratamientos a evaluar: control negativo tween 80 al 1%, control positivo indometacina (10 mg/kg) y extracto etanólico (300 mg/kg). 30 minutos después se les administró una inyección intraperitoneal de ácido acético al 0.6 %, 10 mL/kg (Kumar Gupta & Sagar, 2015). Se procedió a colocar cada ratón de manera individual en cajas de vidrio, y se contabilizó el número de contorsiones cada 5 minutos hasta 30 minutos, se considera contorsión cuando, en simultáneo, se observa estrechamiento del abdomen y parte de la cadera del ratón (Lujan Carpio

& Pante Medina, 2018; Zapata Morales & Aragón Martínez, 2016). Se siguió el procedimiento de la prueba writhing indicado en la Figura 11.

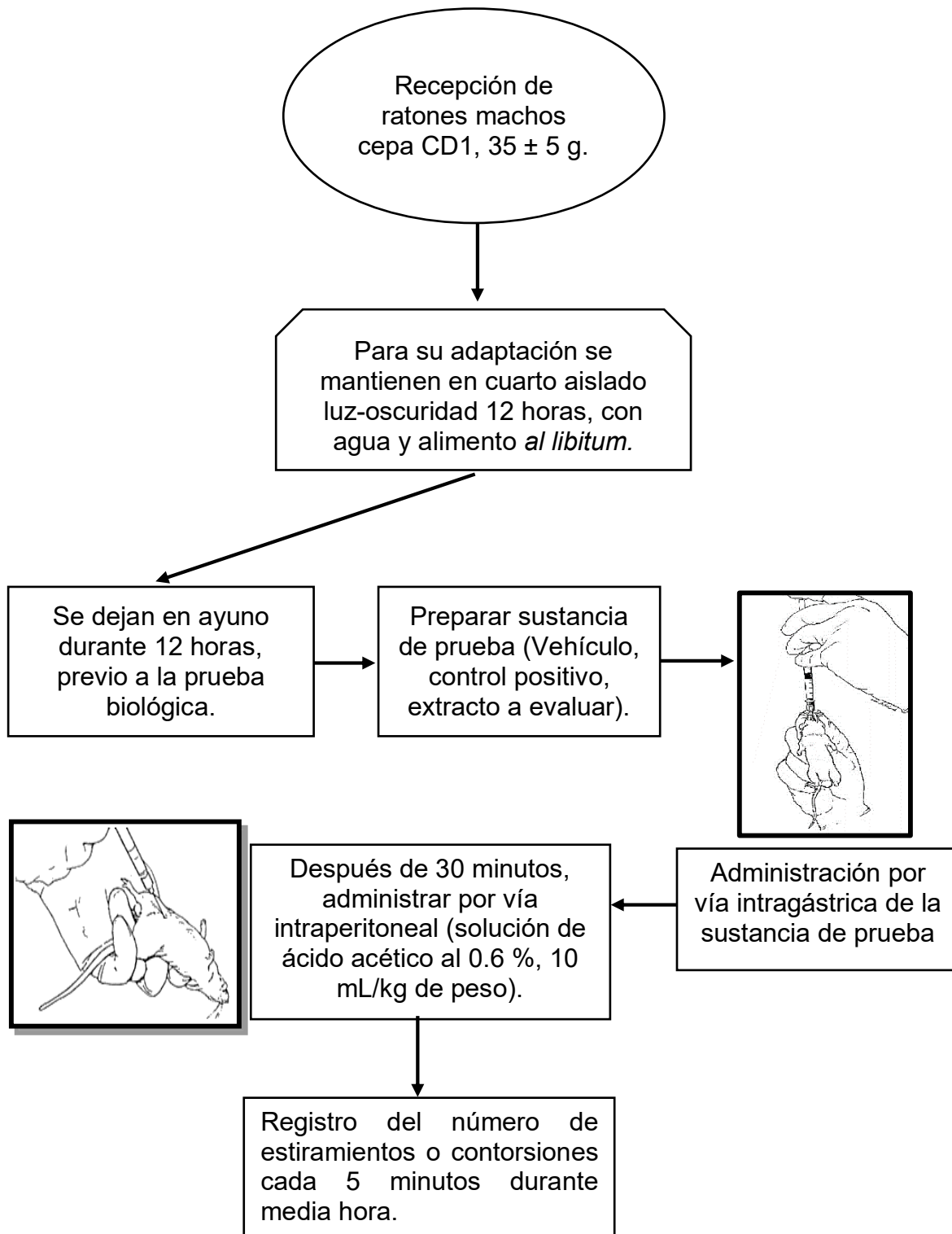


Figura 11. Procedimiento de la prueba en modelo writhing.

6.5.5 Prueba de toxicidad aguda por vía oral

Esta prueba se llevó a cabo bajo los lineamientos del protocolo 423 de la OECD, se utilizaron ratones hembras de cepa CD1 con peso de 35 – 40 g, con una n=3 para cada lote (OECD, 2001).

Para la realización de la prueba los animales se mantuvieron en ayuno 12 horas previas al experimento con libre acceso al agua.

Posteriormente los ratones fueron pesados y marcados para su identificación, de manera aleatoria se escogieron y se formaron cuatro lotes con 3 ratones cada uno.

Las diferentes dosis del extracto 30, 300 y 3000 mg/kg, y el vehículo (Tween 80 al 1 %) se administraron por vía intragástrica, los animales se observaron individualmente después de la dosificación, durante los primeros 30 minutos, y durante las primeras 4 horas, a partir de entonces se observaron diariamente durante un total de 14 días (OECD, 2001), para identificar mortandad y efectos tóxicos.

Al final del estudio se realizó la evaluación macroscópica de órganos vitales los cuales fueron estómago, hígado, páncreas, bazo, intestinos y riñones todas las observaciones se registraron individualmente para cada animal (Déciga Campos & Mata, 2017).

6.6 Análisis de resultados

El efecto antinociceptivo se midió con la disminución del número de contorsiones de los tratamientos con respecto al control (Villanueva Solís & Zapata Morales, 2016).

La actividad antinociceptiva se calculó graficando el curso temporal del número de contracciones con respecto al tiempo y el cálculo del ABC por el método de

los trapecoides, así como el porcentaje de inhibición de las contracciones o contorsiones abdominales, producidos por los diferentes tratamientos (Muñoz & Aragón, 2009).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el paquete RealStats 2013_2016 en el programa Excel y el paquete Graphpad Prism 8. Se llevó a cabo el análisis de varianza ANOVA y la prueba de Tukey para el análisis de las diferencias significativas. Con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$) y análisis del área bajo la curva ABC.

6.7 Cromatografía en capa fina

Se utilizaron placas cromatográficas de sílica gel 60 F₂₅₄ sobre aluminio con medidas de (5 X 5 cm). Los sistemas de elución fueron preparados con los disolventes que se indica en la Tabla 4.

Tabla 4. Sistemas de elución.

Disolventes (proporción)
Hex/ AcOEt (8:2)
Hex/ AcOEt (1:1)
AcOEt (100%)
AcOEt/MeOH (8:2)

Se procedió a disolver una muestra del extracto crudo con etanol, con un capilar se colocó en la placa cromatográfica y se eluyeron en los diferentes sistemas de elución (una placa para cada sistema), posteriormente se expusieron a luz ultravioleta (UV) para observar la fluorescencia de los metabolitos, finalmente se utilizaron distintos reveladores; estos fueron FeCl₃ (polifenoles y flavonoides), Ce₂SO₄

(terpenos), vainillina/H₂SO₄ (polifenoles), Dragendorff (alcaloides) y H₂SO₄/EtOH (universal) (Secretaria de Salud, 2015; Rengifo Zevallos, 2018; Braz, 2012).

6.8 Pruebas fitoquímicas

El extracto etanólico se sometió a pruebas fitoquímicas preliminares para la identificación de metabolitos secundarios presentes, con una espátula se colocaron 10 mg del extracto etanólico (EE) en distintos viales previamente rotulados, para su identificación.

Alcaloides: EE + 2 mL de HCl al 1% y 2 gotas de reactivo Dragendorff (positivo color naranja ladrillo).

Auronas: EE + 2 mL de HCl concentrado (positivo color rojo).

Saponinas: EE + 2 gotas concentrados de anhídrido acético y ácido sulfúrico (positivo color azul, verde o violeta).

Taninos y OH fenólicos: EE + 1 mL de agua destilada y de FeCl₃ al 1 % (positivo color amarillo, verde o azul).

Cumarinas: EE + 1 mL de NaOH al 10 % (color amarillo).

Triterpenos: EE + 1 mL de anhídrido acético y de cloroformo se enfrió 0 °C, posteriormente se adicionó 1 gota de ácido sulfúrico concentrado y enfrió nuevamente a 0 °C (positivo color rojo).

(Beltrán Villanueva, 2013).

6.9 Fraccionamiento del extracto crudo

5 g de extracto total fueron fraccionados mediante el método de partición (Figura 8). Para obtener las fracciones se prosiguió a pesar el extracto etanólico que se disolvió en 10 mL de etanol + 90 mL de agua. La partición se llevó a cabo con cloroformo (100 mL x 3) para obtener la fracción clorofórmica (CHCl₃), acetato de etilo (AcOEt)

(100 mL x 3) para obtener la fracción de acetato de etilo y acuosa (H₂O) (Castillo Mitre & Zamilpa, 2016).

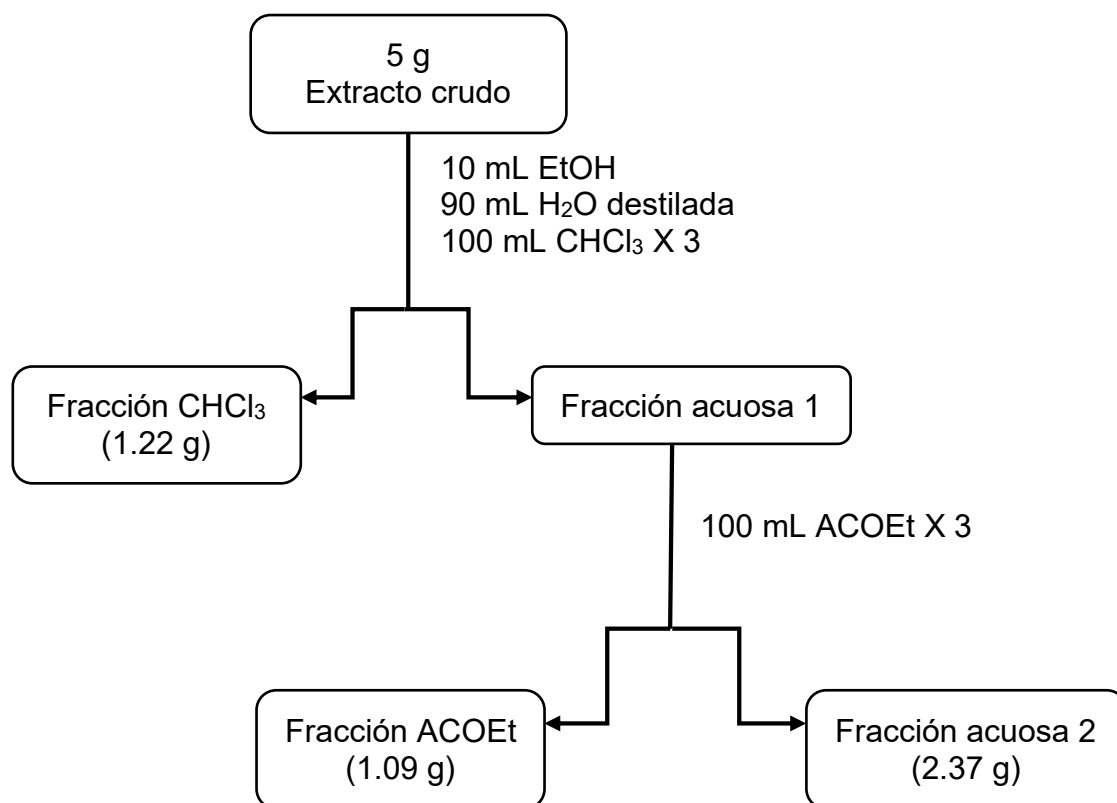


Figura 12. Fraccionamiento del extracto crudo por partición.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis de las características morfológicas de la planta



Figura 13. *E. latifolia* (fuente propia)
Numero de voucher DH001

Hojas: forma de limbo lineal, margen entero, venación paralela.

Flores: formado por 6 pétalos, 5 estambres, sépalos, cáliz, pistilo, estigma, corola, ovario.

Tallos: herbáceos no se presenta una estructura dura o leñosa en el árbol.

Raíz: se localizan entre 5 a 6 ramificaciones por cada bulbo, la zona de crecimiento tiene variaciones dependiendo del tamaño del bulbo.

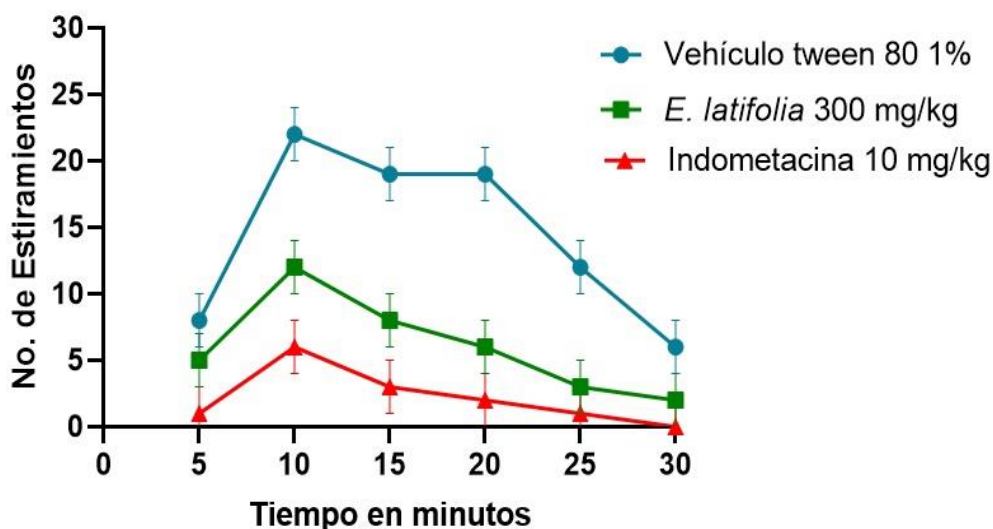
Semilla: conformada por una cubierta estable y firme que protege el cotiledón.

7.2 Rendimiento del extracto

Se pesaron 476.55 gramos de bulbo seco, los cuales fueron extraídos por triplicado mediante maceración con etanol, el disolvente se eliminó mediante un rotavapor a presión reducida obteniéndose 35.08 g de extracto crudo, lo cual corresponde al 8 % de rendimiento.

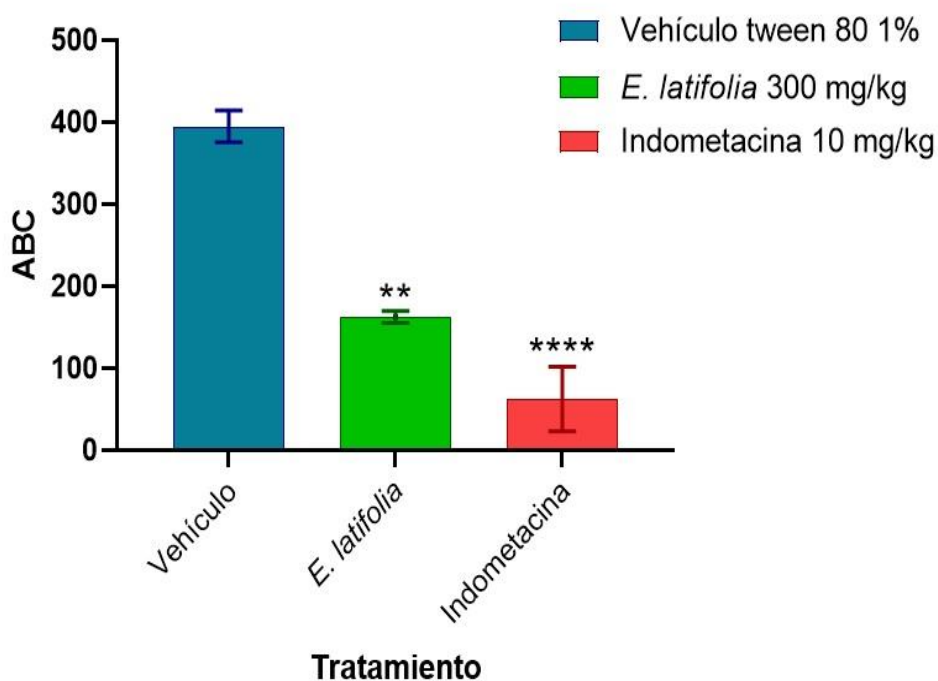
7.3 Resultados de efecto antinociceptivo del extracto etanólico del bulbo de *E. latifolia*

Los resultados obtenidos con el modelo writhing nos indican que el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* presentó efecto antinociceptivo significativo con respecto al vehículo. En la Gráfica 2 se observan los resultados del curso temporal del vehículo (tween 80 1%), el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* (300 mg/kg) y el control positivo, indometacina (10 mg/kg).



Gráfica 2 Curso temporal del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia*, vehículo tween 80 1%, extracto etanólico de *E. latifolia* (300 mg/kg) y control positivo, indometacina (10 mg/kg), n = 7.

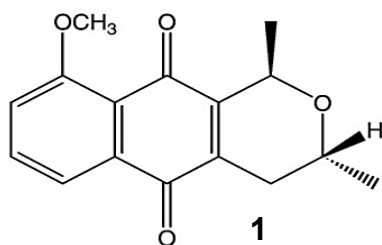
A partir de la gráfica del curso temporal, se realizó el análisis de los datos para obtener el Área Bajo la Curva (ABC), en la Gráfica 3 se muestran los resultados de ABC, donde se observa que de acuerdo a los resultados obtenidos en el modelo writhing el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* (300 mg/Kg) presentó efecto antinociceptivo significativo con respecto vehículo al presentar el 58.14% de inhibición del dolor.



Gráfica 3 Área Bajo la Curva (ABC) los resultados obtenidos en el modelo writhing, vehículo tween 80 1%, extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* (300 mg/kg) y fármaco control indometacina (10 mg/kg), n = 7. Con diferencia significativa, vehículo vs *E. latifolia* **P<0.05 y vehículo vs indometacina ****P< 0.0001 analizado por la prueba de ANOVA y Tukey.

Los resultados obtenidos en este estudio permiten validar el uso de *E. latifolia* en la medicina tradicional del estado de Hidalgo para el tratamiento del dolor, ya que el extracto etanólico de los bulbos presentó efecto antinociceptivo en modelo de dolor writhing comparado con el vehículo, el extracto presentó una inhibición significativa del dolor nociceptivo en los ratones del 58.14 %.

Es importante mencionar que, hasta nuestro conocimiento, la especie *E. latifolia*, no cuenta con estudios farmacológicos o fitoquímicos. Sin embargo, existe un estudio de otra especie de este género realizado por Hyun Song *et al* en 2008, donde investigaron el efecto antiinflamatorio *in vitro* de la especie *E. americana*, en el cual validaron mediante la prueba de inhibición enzimática de la enzima óxido nítrico sintasa, el compuesto aislado corresponde a isoeleuterina **1**, una naftoquinona que podría presentar efecto antiinflamatorio clínicamente útil (Hye-Young, Su-Hyun, Ah-Reum, Seoung Woo, & Sang Hyung, 2008).



La estructura 1,4-naftoquinona se encuentra en un gran número de compuestos de origen natural y es asociada con diversas propiedades biológicas, por ejemplo, se ha descrito el uso de las hojas de *Plumbago zeylanica* en el tratamiento del dolor reumático, en donde la plumbagina (2-metil-5-hidroxi-1,4-naftoquinona) se muestra como la responsable de tal efecto, otras actividades descritas para la plumbagina son como antiespasmódica, antibacteriana, antifúngica antiparasitaria y anticancerígena (López, 2011). También en otros estudios se ha demostrado la actividad farmacológica de naftoquinonas en diferentes modelos de hipernocicepción e inflamación en ratones (Tessele, 2011).

El género *Eleutherine* se caracteriza por la presencia de naftoquinonas por lo que no se descarta que *E. latifolia* también contenga este tipo de metabolitos secundarios, por lo que es posible que el efecto antinociceptivo mostrado por la especie vegetal se deba en parte a la presencia de este tipo de compuestos. Tomando como referencia los estudios de *E. americana*, podemos incluir a *E. latifolia* dentro de plantas que se encuentran en estudio en búsqueda de moléculas activas para el tratamiento del dolor, por lo cual, es necesario continuar su estudio para caracterizar los metabolitos responsables del efecto antinociceptivo.

7.4 Resultados de la evaluación de toxicidad

Los resultados de la evaluación de la toxicidad aguda mostraron que el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* no presentó mortandad ni alteraciones morfológicas significativas en los roedores a las dosis evaluadas (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de la toxicidad aguda.

Dosis de <i>e. latifolia</i> mg/kg.	Mortandad	% de mortandad.
30	0/3	0
300	0/3	0
3000	0/3	0

Con respecto al protocolo 423 de la OECD el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* se encuentra en la categoría 5, al no presentar mortandad en los ratones a dosis mayor de 2000 mg/kg (OECD, 2001).

7.5 Metabolitos identificados con reveladores

Las cromatografías en capa fina del extracto etanólico y las fracciones de los bulbos de *E. latifolia*, utilizando los reveladores FeCl_3 , Ce_2SO_4 y Dragendorff dieron positivo, evidenciando la presencia de metabolitos de tipo polifenoles, terpenos y alcaloides, lo cual fue corroborado con los resultados obtenidos en las pruebas fitoquímicas.

7.6 Metabolitos identificados con pruebas fitoquímicas

Las pruebas fitoquímicas realizadas al extracto etanólico y las fracciones de los bulbos de *E. latifolia* confirmaron la presencia de metabolitos de tipo taninos y OH fenólicos, triterpenos y alcaloides, véase Tabla 6.

Tabla 6. Metabolitos identificados.

Metabolitos	Resultado
Alcaloides	+
Taninos y OH fenólicos	+
Triterpenos	+

Los resultados de este trabajo proporcionan información científica sobre el efecto antinociceptivo, la DL₅₀ y las familias de metabolitos presentes en el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia*, una especie vegetal que propone un campo de investigación para el área farmacéutica y química.

VIII. CONCLUSIÓN

- Se validó el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* en el modelo writhing de dolor a dosis de 300 mg/kg.
- El extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* no presentó mortandad ni alteraciones morfológicas significativas en ratones a las dosis evaluadas.
- Las pruebas fitoquímicas del extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* evidenciaron la presencia de metabolitos de tipo terpeno, polifenol y alcaloide.
- Los resultados del efecto antinociceptivo, toxicidad aguda y pruebas fitoquímicas hasta nuestro conocimiento son los primeros realizados en la especie *E. latifolia*, por lo tanto, contribuye al conocimiento farmacológico y químico de la herbolaria medicinal de la región Huasteca del estado de Hidalgo.

IX. RECOMENDACIONES

- Como el extracto etanólico de los bulbos de *E. latifolia* presentó efecto antinociceptivo significativo, se sugiere realizar la evaluación de la fracción acuosa, acetato de etilo y clorofórmica.
- El estudio fitoquímico proporciona información importante de los metabolitos presentes en el extracto etanólico de los bulbos, se sugiere continuar con el aislamiento, identificación y evaluación de los compuestos puros.
- Se recomienda realizar otras pruebas para evaluar dolor e inflamación como: Hot plate, formalina y tail flick.

X. BIBLIOGRAFÍA

Aria. (2013). *1aria*. Obtenido de La escalera analgésica de la OMS y los fármacos del dolor:

<https://www.1aria.com/contenido/dolor/programa-dolor/dolor-tratamiento/dolor-tratamiento-escalera-oms-farmacos?name=dolor/programa-dolor/dolor-tratamiento/dolor-tratamiento-escalera-oms-farmacos>

Almaguer Gonzalez, J. A. (2009). *gob.mx*. Obtenido de Anteproyecto para la ley marco en materia de medicinas complementarias:

<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/37974/LeyMarcoMedicinasComplementarias.pdf>

Almeida Alves, T., Kloos, H., & Leomar, C. (2003). Eleutherinone, a Novel Fungitoxic Naphthoquinone from *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae). *98*(5).

Azkue, J. J., Ortiz, V., Torre, F., & Aguilera, L. (2019). *Elsevier*. Obtenido de La Sensibilización Central en la fisiopatología del dolor: <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-medica-bilbao-316-pdf-S0304485807745936>

Beltrán Villanueva, C. E. (2013). Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 619 - 631.

Bianchi, C., & Ceriotti, G. (1975). Chemical and Pharmacological Investigations of Constituents of *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. (Iridaceae). *Journal of pharmaceutical Sciences*, 64(8).

Braz, R. (2012). Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 1111 - 1118.

Castillo Mitre, G. F., & Zamilpa, A. (2016). *Innovación tecnológica para la seguridad alimentaria*. Obtenido de Fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de

Acacia cochliacantha y su efecto contra huevos del parásito nematodo *Haemonchus contortus*: https://www.researchgate.net/profile/Jorge-Herrera-19/publication/310671449_INNOVACION_TECNOLOGICA_PARA_LA_SEGURIDAD_ALIMENTARIA/links/5848747808ae95e1d1665cae/INNOVACION-TECNOLOGICA-PARA-LA-SEGURIDAD-ALIMENTARIA.pdf#page=367

Carrillo Esper, R., Lara Caldera, B., & Ruíz Morales, J. M. (2010). Hierbas, medicina herbolaria y su impacto en la práctica clínica. *Revista de investigación Médica Sur*, 124 - 130.

Carrillo Munguía, N. (2007). Mecanismos opiodes que participan a nivel supraespinal en la potenciación del efecto antinociceptivo de la combinación tramadol + cafeína en el modelo de la formalina. Colima: Universidad de Colima.

Chen, D., Sun, Z., & Liu, Y. (2020). Eleucanainones A and B: Two Dimeric Structures from the Bulbs of *Eleutherine americana* with Anti-MRSA Activity. Obtenido de Publications:

<https://pubs.acs.org/action/showCitFormats?doi=10.1021/acs.orglett.0c00903&ref=pdf>

CONABIO. (2021). Obtenido de Enciclovida:

<https://enciclovida.mx/especies/157330>

Costigan, M., & Woolf, C. (2000). Pain: Molecular Mechanisms. *The Journal of Pain*, 35 - 44.

Covarrubias Gómez, A., Guevara López, U., Cantú Brito, C., & Nuche Cabrera, E. (2015). Recomendaciones de práctica clínica para el manejo del dolor neuropático: Grupo de interés en dolor neuropático de la Asociación Mexicana para el Estudio y Tratamiento del Dolor. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 264 - 276.

Déciga Campos, M., & Mata, R. (2017). Antinociceptive pharmacological profile of *Dysphania graveolens* in mouse. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 933-938.

- DGCS UNAM. (2017). *Herbolaria*. Obtenido de <https://www.dint.unam.mx/blog/index.php/item/3330-herbolaria>
- Espejo Serna, A., López Ferrari, A. R., & Ceja Romero, J. (2010). Obtenido de inecolbajio: <http://inecolbajio.inecol.mx/floradelbajio/documentos/fasciculos/ordinarios/Iridaceae%20166.pdf>
- Ferrandiz Mach, M. (2016). *Academia.cat*. Obtenido de Fisiopatología del dolor : <https://www.academia.cat/files/425-12002-DOCUMENT/Ferrandiz0403Abr17.pdf>
- Goicoechea García, C. (2016). *rpgl.org*. Obtenido de Mecanismos moleculares de la Sensibilización Periférica: <https://rpgl.org/articulos/mecanismos-moleculares-de-la-sensibilizacion-periferica-2>
- Hernández Martínez , V. (2013). *Etnobotánica médica de los nauas de la Huasteca, México*. Barcelona.
- Hye-Young, M., Su-Hyun, S., Ah-Reum, H., Seoung Woo, P., & Sang Hyung, L. (2008). Suppression of inducible nitric oxide synthase by (-)-isoeleutherin from the bulbs of *Eleutherine americana* through the regulation of NF- κ B activity. *Elsevier*(9).
- IASP. (2020). *Dolor.com*. Obtenido de Nueva definición de Dolor según la IASP <https://www.dolor.com/es-es/para-sus-pacientes/tipos-de-dolor/nueva-definicion-dolor>
- INAH. (2008). *La Huasteca: región multicultural*. Obtenido de <https://www.inah.gob.mx/boletines/3099-la-huasteca-region-multicultural>
- INECOL. (2015). *Plantas Medicinales de la Matamba y el Piñonal municipio de Jamapa, Veracruz* (Primera edición ed.). (B. E. Escamilla Pérez, & P. Moreno Casasola, Edits.) Xalapa, Veracruz: ISNB.

- INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. Obtenido de Huejutla de Reyes, Hidalgo:
http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/13/13028.pdf
- Jalil, A. (2017). *Reacción inflamatorio*. Obtenido de Tejido sanguíneo y hematopoyesis : : <https://www.researchgate.net/publication/317831899>
- Katzung, G. (2013). *Farmacología básica y clínica* (12a. edición ed.). (interamericana, Ed.) Mexico: MC Graw Hill.
- Kumar Gupta, A., & Sagar, A. (2015). Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Gelsolin in Acetic Acid Induced Writhing, Tail Immersion and Carrageenan Induced Paw Edema in Mice. *PLOS ONE*, 1-16.
- Leon , S., Wu Pong, S., & B.C. Yu, A. (2005). *Applied biopharmaceutics y pharmacokinetics* (Quinta edición ed.). EUA: McGraw-Hill.
- López, L. (2011). Las naftoquinonas más pigmentos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias farmacéuticas*, Vol 42.
- Lujan Carpio, E., & Pante Medina, C. (2018). Dosis respuesta en la actividad analgésica periférica de la metformina en la prueba de contorsiones abdominales en ratones. *Horiz Med*, 41-46.
- Mahabusarakam, W., Hemtasin, C., Chakthong, S., & Beatrice Olawumi, I. (2009). Naphthoquinones, Anthraquinones and Naphthalene Derivatives from the Bulbs of *Eleutherine americana*. *Planta med*(76).
- Malheiros, L. C. (2008). *repositorio.ufpa*. Obtenido de
http://repositorio.ufpa.br/jspui/bitstream/2011/3030/6/Dissertacao_IsoeleuterollsoeleuterinaPontenciais.pdf
- Masfria Masfria, & SA Tampubolon, M. (2019). Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7048365/>

- Mei Gen, H., Yang Yang, L., Ron tao, L., & Men, Y. (2018). New Naphthalene Derivatives from the Bulbs of *Eleutherine americana* with Their Protective Effect on the Injury of HUVECs. *molecules*, 1-9. Obtenido de Molecules.
- Molina Mendoza, J. L., Gálvan Villanueva, R., & Patiño Siliciano, A. (2012). Plantas medicinales y listado florístico preliminar del municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo, México. *POLIBOTÁNICA*, 259 - 291.
- Moreno Pérez, G. F., & Narvaéz González, H. (2020). Plantas medicinales para el alivio del dolor. *Ciencia*, 46-51.
- Muñoz, C., & Aragón, D. (2009). Efecto antinociceptivo de *Critoniellaacuminata*, *Physalis peruviana* y *Salvia rubescens*. *Revista Colombiana Ciencia Química Farmacéutica*, 31-41.
- Mutiah, R., Listiyana, A., Susilowati, R., & Ambar Sari, R. (2020). Activity and Toxicity of *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr. Extract on BALB/c Mice Colitis-Associated Colon Cancer Model. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(12).
- Nuñes Cámara, C. (2001). *Boletín Farmacoterapéutico de Castilla la Mancha*. Obtenido de https://sanidad.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacia/ij_4_aines_clasicos.pdf
- OECD. (2001). *ntp.niehs.nih.gov*. Obtenido de OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS:
https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddoks/oecd/oecd_gl423.pdf
- OMS. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 - 2023*. Obtenido de http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf?jsessionid=2FAE4085CF9AB223161EEF289AA86639?sequence=1

- OVIS. (2019). *México: País megadiverso*. Obtenido de <http://ovis.org.mx/uncategorized/831/>
- Pineda Herrera, E. (2020). Reconocimiento y usos tradicionales de plantas en una comunidad indígena migrante de San Luis Potosí, México. *Botanical Sciences*, 145-158.
- R. Gallo, F., Palazzino, G., Federici, E., & Iurilli, R. (2010). Polyketides from *Eleutherine bulbosa*. *Natural Product Research*, 24(16).
- Rengifo Zevallos, D. (2018). Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum Schubert*. *Revista Sociedad Química de Perú*, 175-182.
- Reum Han, A., Young Min , H., Won Nan, J., & Youn Lee, N. (2008). Identification of a New Naphthalene and Its Derivatives from the Bulb of *Eleutherine americana* with Inhibitory Activity on Lipopolysaccharid- Induced Nitric Oxide Production. *Chem. Pharm. Bull*, 56(9).
- RIE. (2018). *Rehabilitación e Intervención especializada*. Obtenido de Dolor y Fisioterapia: <https://www.riehabilitacion.com.mx/dolor-y-fisioterapia/>
- Rivas Morales, C., & Oranday Cárdenas, M. A. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. México: OmniaScience.
- Robles Pizarro, V., Tarqui Cabrera, L., & Rodriguez Collazos, N. (2014). Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa*. *Horizonte Médico*, 6 - 10.
- Secretaria de Salud. (2015). *FEUM*. México: Biblioteca Nacional de México.
- Shibuya, H., Fukushima, T., Ohashi, K., Nakamura, A., & Kitagawa, I. (1997). Indonesian Medicinal Plants. XX. Chemical Structures of Eleuthosides A, B and C, Three New Aromatic Glucosides from the Bulbs of *Eleutherine palmifolia* (Iridaceae). *Pharmaceutical Society of Japan*, 45(7).

- Sirirak, T., & Voravuthikunchai, S. P. (2014). *Eleutherine americana*: A candidate for the control of *Campylobacter* species. Recuperado el 21 de 01 de 2021, de oxfordjournals.org: <http://ps.oxfordjournals.org/> at University of California, Santa Cruz on November 17, 2014
- Tessele, P. B. (2011). A new naphthoquinone isolated from the bulbs of *Cipura paludosa* and pharmacological activity of two main constituents. *Planta Medica*, 1035 - 1043.
- Tomohiro, L., DPT, M., & Kawabata, J. (2011). a-Glucosidase inhibitors from the bulb of *Eleutherine americana*. *Elsevier*.
- UNAM. (2014). *Eleutherine latifolia* (Standl. & L.O.Williams) Ravenna. Obtenido de <https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:907555>
- Vergara Salazar, N. (2017). *ISPCH*. Obtenido de newsfarmacovigilancia: <https://www.ispch.cl/newsfarmacovigilancia/09/images/parte06.pdf>
- Vergel Rivera, G. (2009). *Farmacología proceso de atención en Enfermería*. La Habana: Ciencias Médicas. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/61807343/FARMACOLOGIA_Proceso_de_Enfermeria_unlocked20200116-31490-1y6yife.pdf?1579215861=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DFARMACOLOGIA_Proceso_de_Enfermeria_unloc.pdf&Expires=1616718938&Signature=Ji
- Vicente Herrero, M. T., & Delgado Bueno, S. (2018). Valoración del dolor. Revisión comparativa de escalas y cuestionarios. *Soc Esp Dolor*, 228 - 236.
- Villanueva Solís, L. E., & Zapata Morales, J. R. (2016). Evaluación del efecto antinociceptivo de *Bidents Odarata*. *Jóvenes en la Ciencia*, 133-137.
- Wijaya Kusuma, I., Tangke Arung, E., & Rosamah, E. (2010). Antidermatophyte and antimelanogenesis compound from *Eleutherine americana* grown in Indonesia. *Springer*(64).

Zapata Morales, J., & Aragon Martinez, O. (2016). Isobolographic Analysis of the Interaction Between Tapentadol and Ketorolac in a Mouse Model of Visceral Pain. *Drug development research*, 187-191.

XI. ANEXOS

11.1 Análisis estadístico de los datos de las pruebas biológicas en el programa de GraphPad Prims 8.0.1

11.1.1 Análisis estadístico del extracto etanólico del bulbo de *Eleutherine latifolia* en modelo de dolor writhing, resultados de la prueba ANOVA

Ordinary one-way ANOVA ANOVA results	Modelo Writhing
Table Analyzed	One-way ANOVA data
Data sets analyzed	A-C
ANOVA summary	
F	22.21
P value	<0.0001
P value summary	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R square	0.7873
Brown-Forsythe test	
F (DFn, DFd)	1.192 (2, 12)
P value	0.3371
P value summary	ns
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No
Bartlett's test	
Bartlett's statistic (corrected)	3.366
P value	0.1858
P value summary	ns
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No

11.1.2 Análisis estadístico del extracto etanólico del bulbo de *Eleutherine latifolia* en modelo de dolor writhing. Prueba Tukey

Ordinary one-way ANOVA Multiple comparisons						
	Modelo Writhing					
Number of families	1					
Number of comparisons per family	3					
Alpha	0.05					
Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value	
Vehículo vs. <i>E. latifolia</i>	46.50	19.18 to 73.82	Yes	**	0.0018	A-B
Vehículo vs. Indometacina	66.50	39.18 to 93.82	Yes	****	<0.0001	A-C
<i>E. latifolia</i> vs. Indometacina	20.00	-7.316 to 47.32	No	ns	0.1665	B-C

11.1.3 Análisis estadístico de *Eleutherine latifolia* en modelo de dolor writhing prueba de área bajo la curva

AUC	Vehículo Tween	<i>E. latifolia</i> 300 mg/kg	Indometacina 10 mg/kg
Baseline	0	0	0
Total Area	395.0	162.5	62.50
Total Peak Area	395.0	162.5	62.50
Number of Peaks	1	1	1
Peak 1			
First X	5.000	5.000	5.000
Last X	30.00	30.00	30.00
Peak X	10.00	10.00	10.00
Peak Y	22.00	12.00	6.000
Area	395.0	162.5	62.50
%Area	100.0	100.0	100.0

11.2 Materiales utilizados para el modelo de dolor writhing

11.2.1 Materiales y reactivos

Extracto etanólico del bulbo de *E. latifolia*.

Solución de tween 80 al 1%.

Solución de Indometacina dosis 10mg/kg (Sigma Aldrich).

Solución ácido acético 0.6% v/v (Sigma Aldrich chemical).

11.2.2 Equipo

1 Balanza analítica.

1 Balanza granataria.

1 Cánula intragástrica.

Jeringas para insulina 1ml.

1 Cámara de eutanasia.

11.3 Materiales utilizados para la prueba de toxicidad

11.3.1 Materiales y reactivos

Extracto etanólico del bulbo de *E. latifolia*.

Solución de tween 80 al 1%. (vehículo).

Solución salina al 0.9% PISA.

Caja de Petri.

Pinzas de disección.

Bisturí.

Bolsa de polietileno amarilla.

11.3.2 Equipo

Microscopio estereoscópico.