



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**“Estudio farmacológico de *Leucophyllum frutescens* y
Plantago lanceolata en modelos de dolor en ratones
CD1”**

Tesis que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DE LA SALUD

Presenta:

L.F. MARÍA TERESA VARGAS PICAZO

Director(a) de Tesis

DRA. MINARDA DE LA O ARCINIEGA

Codirectora de Tesis

DRA. CLAUDIA VELÁZQUEZ GONZÁLEZ

San Agustín Tlaxiaca Hgo. a 19 de junio de 2017.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto de Ciencias de la Salud
 School of Health Sciences
 Área Académica de Medicina
 Department of Medicine
 Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud

19/JUNIO/2017
 AAMMCBS/070/2017

Asunto: Asignación de Jurado de Examen

Vargas Picazo María Teresa
 Alumna de la Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud

Por este conducto le comunico el jurado que le fue asignado a su Tesis titulada "Estudio farmacológico de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en modelos de dolor en ratones CD1" con el cual obtendrá el Grado de Maestra en Ciencias Biomédicas y de la Salud; después de revisar la tesis mencionada y haber realizado las correcciones acordadas, han decidido autorizar la impresión de la misma.

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

- PRESIDENTE DRA. CLAUDIA VELÁZQUEZ GONZÁLEZ
- PRIMER VOCAL DRA. MINARDA DE LA O ARCINIEGA
- SECRETARIO DRA. MIRANDELI BAUTISTA ÁVILA
- SUPLENTE DRA. RAQUEL CARIÑO CORTÉS
- SUPLENTE DR. JOSÉ DE JESÚS MANRIQUEZ TÓRRES

Sin otro asunto en particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

M.C. ESP. ADRIÁN MOYA ESCALERA
 DIRECTOR



DRA. LYDIA LÓPEZ PONTIGO
 COORDINADORA DE POSGRADO ICSA

DR. MANUEL SÁNCHEZ GUTIÉRREZ
 COORDINADOR DEL PROGRAMA



Instituto de Ciencias de la Salud
 Exhacienda la Concepción s/n Camino a Tlilcuautla,
 San Agustín Tlaxiaca, Hgo. C.P. 42160
 Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4306
 mtria_bio_sal@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Durante el desarrollo de estos estudios, se contó con una beca de manutención otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), número de beca 416646. Parte de este trabajo fue presentado en:

La Feria Internacional de la Salud realizada del 9 al 13 de mayo del 2016, presentando el póster “Evaluación antinociceptiva de los extractos etanólicos de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en un modelo de dolor en ratones CD1” durante el VI Foro Internacional de Investigación de la Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud, en el Instituto de Ciencias de la Salud, UAEH.

La 12ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, celebrada en la ciudad de Xalapa, Veracruz, del 18 al 20 de mayo del 2016, presentando el cartel “Determinación de la actividad antinociceptiva de *Leucophyllum frutescens* en ratones CD1, Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales y la Universidad Veracruzana. Revista Latinoamericana de Química, Suplemento Especial -2016, Vol 44 p 133, ISSN 0370-5943 edit MIXIM.

El primer Simposio de Investigación en Salud, realizado el día 18 de noviembre de 2016 con la ponencia “Determinación de la actividad antinociceptiva de *Leucophyllum frutescens* en ratones CD1”, celebrado en el Instituto de Ciencias de la Salud, UAEH.

La Feria Internacional de la Salud realizada del 10 al 12 de mayo del 2017, presentando la ponencia “Evaluación antinociceptiva de *Leucophyllum frutescens* en modelos de dolor en ratones CD1” durante el VII Foro Internacional de Investigación de la Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud, en el Instituto de Ciencias de la Salud, UAEH.

La 13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos naturales, celebrada en la ciudad de Morelia, Michoacán los 17 al 20 de mayo del 2017, presentando el cartel “Actividad antinociceptiva del extracto y fracciones activas de *Leucophyllum frutescens*”. Revista Latinoamericana de Química, Suplemento Especial -2017, Vol. 45, p 239, ISSN 0370-5943 edit. MIXIM.

Dedicatorias

A Dios

Por darme la oportunidad de vivir, por haberme permitido llegar hasta este punto, por haberme dado salud para lograr mis objetivos, por darme la fuerza y los dones suficientes para realizar mis sueños, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi apoyo y compañía durante este periodo de estudio, me has dado más de lo que pude imaginar.

A mi familia

Por su ayuda, cariño, compañía y atenciones para conmigo, gracias por estar siempre juntos.

A mis maestros

Por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de mi formación profesional.

A mis amigos

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y por compartir los buenos y malos momentos.

Agradecimientos

A mí esposo Juan Antonio, que ha sido mi compañero, gracias por tu confianza y por compartir esta responsabilidad en el proyecto de vida que tenemos. Tu confianza en mí ha sido mi fortaleza, gracias por tu apoyo en mis ausencias, eres parte de este logro.

A mis hijos: Antonio Javier y Teresa Raquel, quienes han sido mi inspiración para seguir adelante en este camino llamado vida, quiero decirles que los amo con todo mi corazón, que deseo que siempre sean felices.

A mis padres y hermanas que aunque a la distancia siempre me han mostrado su apoyo.

A mis suegros: Irma y Luis Antonio, por su apoyo constante en mi familia, porque han sido una fuente constante de bendiciones para mi hogar, muchas gracias por todos sus cuidados.

A mis abuelitos, gracias por ser quienes iniciaron estas hermosas familias, por ser líderes y fuentes de inspiración para cada uno de quienes formamos parte de ellas.

A mis tí@s y prim@s quienes hemos sido criados en un amor fraterno, gracias por sus muestras de apoyo y cariño.

A todos los miembros del comité de tesis:

Dra. Mini De la O gracias por su valiosa dirección, por su paciencia y comprensión a lo largo de estos años, por toda su valiosa experiencia que fue compartida de manera tan generosa, le agradezco en especial su motivación para seguir en los momentos difíciles.

Dra. Claudia Velázquez muchas gracias por sus aportaciones, por su entusiasmo y motivación para prepararme cada día mejor.

Dra. Mirandeli Bautista, le agradezco todas las facilidades para lograr este objetivo, gracias por todos sus consejos y recomendaciones que han sido de mucha utilidad en mi formación.

Dra. Raquel Cariño, gracias por sus valiosos consejos y sus recomendaciones siempre los tendré en cuenta.

Dr. Jesús Manríquez, muchas gracias por todas sus indicaciones, sus recomendaciones han sido imprescindibles para el desarrollo de este trabajo.

A mis autoridades en la Maestría, Dr. Manuel Sánchez, agradezco su generosa disposición en este proceso, Dr. Eliezer Zamarripa, gracias por su apoyo.

A mis profesoras y profesores, Dra. Rebeca Guzmán, Dra. Teresita Saucedo, Dra. Gloria Solano, Dra. Carmen Valadez, Dra. Janeth Izquierdo, Dra. Alejandra Hernández, Dr. Luis Soria, personas de gran liderazgo y ejemplo tenaz.

Gracias por su interés y motivación constante para mi superación académica, todo este trabajo ha sido posible gracias a todos ustedes.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ABREVIATURAS	8
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
I INTRODUCCIÓN	12
II ANTECEDENTES	16
2.1. Generalidades	16
2.1.1 <i>Definición del dolor en humanos y animales</i>	16
2.1.2 <i>Características del dolor</i>	16
2.1.3 <i>Clasificación del dolor</i>	16
2.1.3.1 <i>Dolor nociceptivo</i>	17
2.1.3.1.1 <i>Somático</i>	18
2.1.3.1.2 <i>Visceral</i>	18
2.1.3.2 <i>Dolor inflamatorio</i>	18
2.1.3.3 <i>Dolor neuropático</i>	20
2.1.4 <i>Anatomía del dolor</i>	21
2.1.4.1 <i>Receptores sensoriales</i>	21
2.1.4.2 <i>Fibras nerviosas aferentes</i>	21
2.1.4.2. <i>Nocicepción</i>	23
2.1.4.3 <i>Nociceptores</i>	23
2.1.4.3.1 <i>Clasificación de los nociceptores</i>	24
2.1.5 <i>Fisiología del dolor</i>	24
2.1.5.2 <i>Transducción</i>	25
2.1.5.2.1 <i>Receptores de superficie celular</i>	25
2.1.5.2.2 <i>Canales TRP (Transient Receptor Potential)</i>	26
2.1.5.2.2.1 <i>Estructura primaria de los canales TRP</i>	27
2.1.5.2.2.2 <i>Los mecanismos de apertura de los canales TRP</i>	28
2.1.5.3 <i>Conducción o Transmisión del dolor</i>	29
2.1.5.4 <i>Modulación de la percepción de dolor</i>	30

2.1.5.5. Percepción del dolor	32
2.2 Antecedentes del problema.....	33
2.2.1 Datos epidemiológicos del dolor	33
2.2.2. Organismos internacionales para el estudio y tratamiento del dolor	33
2.2.3. Organismos nacionales para el estudio y tratamiento del dolor.....	34
2.2.4. Evaluación del dolor.....	35
2.2.4.1. Instrumentos de medición del dolor en humanos	35
2.2.4.2. Medición del dolor en animales	37
2.2.4.3. Modelos animales de dolor	37
2.2.4.3.1. Principios éticos de los modelos animales de dolor.....	38
2.2.4.3.2. Condiciones experimentales para producir el estímulo doloroso	39
2.2.4.3.3. Características de los modelos animales de dolor	39
2.2.4.3.4. Test de Hot plate (placa caliente)	40
2.2.4.3.5. Modelo Writhing (dolor visceral)	41
2.2.5. Farmacoterapia del dolor.....	42
2.2.5.1. Concepto de analgésico	42
2.2.5.2. Objetivo del tratamiento del dolor.....	42
2.2.5.3. Fármacos útiles en el tratamiento del dolor	43
2.2.5.3.1. Inhibidores de la Ciclooxygenasa	43
2.2.5.3.2. Opioides	46
2.2.5.3.3. Adyuvantes de la analgesia	48
2.2.5.3.4. Anestésicos locales.....	49
2.2.5.3.5. Anticolinérgicos.....	50
2.2.5.3.6. Relajantes musculares.....	51
2.2.5.4. Datos epidemiológicos del uso de los fármacos analgésicos	51
2.2.7. Medicina tradicional y complementaria	53
2.2.7.1. Concepto de la medicina tradicional y complementaria.....	53
2.2.7.2. Importancia del uso de la Medicina Tradicional y Complementaria.....	53
2.2.7.3. Importancia de las plantas medicinales.....	54
2.2.7.4. Empleo de especies vegetales en el estado de Hidalgo	55
2.2.8. <i>Leucophyllum frutescens</i>	57
2.2.8.1. Generalidades de la especie <i>Leucophyllum frutescens</i>	57
2.2.8.1.1. Taxonomía.....	57
2.2.8.1.2. Distribución	58
2.2.8.1.3. Descripción botánica.....	58
2.2.8.1.4. Uso etnobotánico.....	58
2.2.8.1.5. Evaluaciones químicas y farmacológicas a la especie <i>Leucophyllum frutescens</i>	59
2.2.9. <i>Plantago lanceolata</i>	62
2.2.9.1. Generalidades de la especie <i>Plantago lanceolata</i>	62
2.2.9.1.1. Taxonomía.....	63
2.2.9.1.4. Uso etnobotánico.....	63
2.2.9.1.5. Evaluaciones químicas a la especie <i>Plantago lanceolata</i>	64
2.2.9.1.6. Evaluaciones farmacológicas a la especie <i>Plantago lanceolata</i>	66
2.2.9.1.6.1. Actividad antiinflamatoria.....	66
2.2.9.1.6.2. Actividad uterotónica	69
2.2.9.1.6.3. Evaluación de Toxicidad	69
2.2.9.1.6.4. Actividad antioxidante.....	71
2.2.9.1.6.5. Actividad inmunomoduladora	71
2.2.9.1.6.6. Actividad antihelmíntica.....	72
2.2.9.1.6.7. Actividad antiespasmódica.....	72
2.2.9.1.6.8. Actividad antiulcerosa	72
2.2.9.1.6.9. Actividad cicatrizante	73

2.2.9.1.6.10. Actividad antibacteriana	73
2.2.9.1.6.11. Actividad antiobesidad	74
2.2.10. Acteósido	74
2.3 Marco Teórico	76
III JUSTIFICACIÓN.....	78
IV HIPÓTESIS.....	79
V OBJETIVOS.....	80
5.1. Objetivo General.....	80
5.2. Objetivos Específicos	80
VI MATERIAL Y MÉTODOS.....	81
6.1 Tipo de estudio	81
6.2 Tipo de diseño	81
6.3. Material vegetal	82
6.4. Animales de experimentación	82
6.4. Técnicas de evaluación antinociceptiva.....	83
6.4.1. Modelo Hot plate	83
6.4.1.1. Fundamento del modelo Hot plate	83
6.3.1.4. Procedimiento del modelo Hot plate	85
6.4.2. Modelo Writhing.....	87
6.4.2.1. Fundamento del modelo Writhing	87
6.4.2.4. Procedimiento para el modelo Writhing	88
6.5 Análisis estadístico	89
VII RESULTADOS.....	91
7.1 Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de <i>Leucophyllum frutescens</i> y <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor Hot plate.	91
7.2 Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de <i>Leucophyllum frutescens</i> y <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor Writhing.....	94
7.3. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>Leucophyllum frutescens</i> en el modelo de dolor Hot plate	97
7.4. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>Leucophyllum frutescens</i> en el modelo de dolor Writhing.	100
7.5. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor Hot plate.	103

7.6. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor <i>Writhing</i>	106
7.7. Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de <i>Leucophyllum frutescens</i> y <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor <i>Hot plate</i>	109
7.8 Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de <i>Leucophyllum frutescens</i> y <i>Plantago lanceolata</i> en el modelo de dolor <i>Writhing</i>	112
VIII DISCUSIÓN DE RESULTADOS	114
8.1 Efecto antinociceptivo de <i>L. frutescens</i>	114
8.2. Efecto antinociceptivo de <i>P. lanceolata</i>	117
8.3. Efecto antinociceptivo de Acteósido.....	118
IX CONCLUSIONES	122
X RECOMENDACIONES.....	123
XI BIBLIOGRAFÍA	124
XII ANEXOS	138
12.1. <i>Formatos</i>	138
12.1.1. Formato para recolección de datos en el modelo <i>Hot Plate</i>	138
12.1.2. Formato para recolección de datos en el modelo <i>Writhing</i>	139
12.2. <i>Análisis estadístico en GraphPad Prism v.5</i>	140
12.2.1. Análisis estadístico de los extractos etanólicos modelo <i>Writhing</i>	140
12.2.2. Análisis estadístico de las fracciones de <i>L. frutescens</i> modelo <i>Writhing</i>	140
12.2.3. Análisis estadístico de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> modelo <i>Writhing</i>	141
12.2.4. Análisis estadístico de Acteósido en modelo <i>Writhing</i>	141
12.2.5. Análisis estadístico de los extractos etanólicos en el modelo <i>Hot plate</i>	142
12.2.6. Análisis estadístico de las fracciones de <i>L. frutescens</i> en el modelo <i>Hot plate</i>	142
12.2.7. Análisis estadístico de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> en el modelo <i>Hot plate</i>	143
12.2.8. Análisis estadístico de Acteósido en el modelo <i>Hot plate</i>	143
12.3. <i>Materiales y reactivos utilizados en el modelo Hot plate</i>	144
12.3.1. Equipo utilizado en el modelo <i>Hot plate</i>	144
12.4. <i>Materiales y reactivos utilizados en el modelo Writhing</i>	144
12.4.1. Equipo utilizado en el modelo <i>Writhing</i>	145
XII GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	146

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiología del dolor nociceptivo ⁽¹⁾	17
Figura 2. Fisiología del dolor inflamatorio ⁽¹⁾	19
Figura 3. Algunos productos químicos liberados por el daño de tejido que estimulan los nociceptores ⁽¹⁹⁾	20
Figura 4. Fibras nerviosas aferentes ⁽²⁴⁾	22
Figura 5. Receptores de superficie celular ⁽³¹⁾	26
Figura 6. Diversidad de nociceptores ⁽³¹⁾	26
Figura 7. Estructura de nociceptores ⁽³²⁾	28
Figura 8. Mecanismos de apertura de canales TRPV1 ⁽³²⁾	29
Figura 9. Tres niveles de modulación de dolor ⁽³³⁾	31
Figura 10. Instrumentos de medición del dolor en humanos: escala numérica, escala visual analógica y la escala de expresión facial ⁽⁴⁰⁾	36
Figura 11. Escala analgésica de la OMS ^(18,41)	36
Figura 12. Síntesis de prostaglandinas y tromboxanos ⁽⁶⁰⁾	44
Figura 13. Mecanismo de acción de AINES y COXIBs ⁽⁶¹⁾	45
Figura 14. Estructura química de la indometacina (1) ⁽⁶²⁾	46
Figura 15. Mecanismo de receptor-transducción de los opioides ⁽⁶¹⁾	46
Figura 16. Estructura de tramadol (2) ⁽⁶⁶⁾	47
Figura 17. Mecanismo de acción de algunos adyuvantes de la analgesia ⁽⁶⁸⁾	49
Figura 18. Mecanismo de acción de un anestésico local ⁽⁶¹⁾	50
Figura 19. Número de especies vegetales utilizadas en el tratamiento del dolor, en el estado de Hidalgo ⁽⁷⁶⁾	55
Figura 20. <i>Leucophyllum frutescens</i> ⁽⁷⁸⁾	57
Figura 21. Estructura de los lignanos tetrahidrofurofurano aislados de <i>Leucophyllum frutescens</i> . diayangambina (3), epiyangambina (4), diasartemina (5) y epiashantina (6) ⁽⁸³⁾	59
Figura 22. Estructura de leubetanol (7) aislado de <i>Leucophyllum frutescens</i> ⁽⁸⁰⁾	60
Figura 23. Estructura de furanolignano: 2'5"-dimetoxisesamina (8), aislado de <i>Leucophyllum frutescens</i> ⁽⁸⁶⁾	60
Figura 24. <i>Plantago lanceolata</i> ⁽⁹¹⁾	62
Figura 25. Estructura química de la aucubina (9) ⁽⁹⁴⁾	64
Figura 26. Estructura química de catapol (10) aislado de <i>P. lanceolata</i> ⁽⁹⁴⁾	65
Figura 27. Estructura química de asperulósido (11) ⁽⁹⁴⁾	65
Figura 28. Estructura química de los mucílagos contenidos en <i>P. lanceolata</i> (12-18) ⁽⁹⁹⁾	65
Figura 29. Estructura química de ácido caféico (19), ácido clorogénico (20) y plantamajósido (21) aislados de <i>P. lanceolata</i> ⁽⁹⁴⁾	66
Figura 30. Estructura química de Acteósido (22) ⁽⁹⁴⁾	67
Figura 31. Diseño general del estudio	81
Figura 32. Procedimiento del modelo Hot Plate ⁽⁴⁶⁾	86
Figura 33. Procedimiento del modelo Writhing ⁽⁴⁹⁾	89
Figura 34. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CD1.	91

Figura 35. ABC del extracto etanólico de <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	92
Figura 36. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> en el modelo Writhing en ratones CDI.....	94
Figura 37. ABC del efecto antinociceptivo de los extracto de <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> en modelo Writhing en ratones CDI.....	95
Figura 38. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>L. frutescens</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	97
Figura 39. ABC de las fracciones de <i>L. frutescens</i> en modelo Hot plate en ratones CDI..	98
Figura 40. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>L. frutescens</i> en el modelo Writhing en ratones CDI.....	100
Figura 41. ABC del efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>L. frutescens</i> en modelo Writhing en ratones CDI.....	101
Figura 42. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>Plantago lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	103
Figura 43. ABC de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	104
Figura 44. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> en el modelo Writhing en ratones CDI.....	106
Figura 45. ABC del efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> en modelo Writhing en ratones CDI.....	107
Figura 46. Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de <i>L. frutescens</i> y de <i>P. lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	109
Figura 47. ABC de Acteósido (ACT) de <i>L. frutescens</i> y de <i>P. lanceolata</i> en modelo Hot plate en ratones CDI.....	110
Figura 48. Efecto antinociceptivo de ACT de <i>L. frutescens</i> y de <i>P. lanceolata</i> en modelo Writhing en ratones CDI.....	112
Figura 49. Área Bajo la Curva del efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de <i>L. frutescens</i> y de <i>P. lanceolata</i> en modelo Writhing en ratones CDI.....	113
Figura 50. Estructuras de los liganos aislados de <i>L. ambiguum</i> (23-26) ⁽¹³⁹⁾	115
Figura 51. Estructuras de kobusina (25) y 2'2 dimetoxisasamina (26) aislados de <i>L. ambiguum</i> y epiashantina (6) aislado de <i>L. frutescens</i> ^(83,139)	116

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación del dolor.....	17
Tabla 2. Sustancias químicas que estimulan a los nociceptores.....	20
Tabla 3. Tipos de receptores sensoriales según el tipo de respuesta ante el estímulo.	21
Tabla 4. Clasificación de los nociceptores.	24
Tabla 5. Modelos de dolor agudo y crónico validados por el CCPEP.....	40
Tabla 6. Ejemplos de fármacos útiles en el tratamiento del dolor.....	43
Tabla 7. Taxonomía de la especie <i>Leucophyllum frutescens</i>	58
Tabla 8. Taxonomía de la especie <i>Plantago lanceolata</i>	63
Tabla 9. Efecto antinociceptivo de los extractos etanólicos de <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> en modelo <i>Hot plate</i> en ratones <i>CD1</i>	93
Tabla 10. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por los extractos de la especie <i>L. frutescens</i> y <i>P. lanceolata</i> , en dosis de 316 mg / kg en el modelo <i>Writhing</i>	96
Tabla 11. Efecto antinociceptivo de las fracciones de <i>L. frutescens</i> administradas en dosis de 100 mg / kg en modelo <i>Hot plate</i> en ratones <i>CD1</i>	99
Tabla 12. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie <i>L. frutescens</i> , en dosis de 100 mg / kg en el modelo <i>Writhing</i>	102
Tabla 13. Efecto antinociceptivo en porcentaje del efecto máximo posible (EMP), de las fracciones de <i>P. lanceolata</i> administradas en dosis de 100 mg / kg en modelo <i>Hot plate</i> en ratones <i>CD1</i>	105
Tabla 14. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie <i>P. lanceolata</i> , en dosis de 100 mg / kg en el modelo <i>Writhing</i>	108
Tabla 15. Efecto antinociceptivo en porcentaje de Acteósido (ACT) administrado en dosis de 10 mg / kg en el modelo <i>Hot plate</i> en ratones <i>CD1</i>	111
Tabla 16. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por el acteósido (ACT) de <i>L. frutescens</i> y de <i>P. lanceolata</i> , en dosis de 10 mg / kg en el modelo <i>Writhing</i>	113

ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
ACT	Acteósido
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AMETD	Asociación Mexicana para el Estudio y Tratamiento del Dolor
AMPA	Receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
ASIC	Acid-sensing ion channel
CCPEP	Core Curriculum for Professional Education in Pain
CIECUAL	Comité Interno Ético para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio
COX	Ciclo-oxigenasa
COXIBs	Antiinflamatorios selectivos para Ciclooxygenasa 2
DL ₅₀	Dosis letal 50
DOF	Diario Oficial de la Federación
ECOM	Especialidades de consumo de medicamentos
EE	Error estándar
EMP	Efecto máximo posible
EUA	Estados Unidos de América
EVA	Escala visual analógica
EFIC-IASP	Federación europea de capítulos de la Asociación Internacional para el estudio del dolor, por sus siglas en inglés
GABA	Ácido gamma aminobutírico por sus siglas en inglés
GPCR	G proteín-coupled receptor
HPLC	High performance liquid chromatography
IASP	International Association for the Study of Pain
IL	Interleucina
INEGI	Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
InsP3	Trifosfato de inositol
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
kg	Kilogramo
K2P	Canales de potasio de 2 poros
mL	Mililitro
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
MTC	Medicina tradicional y complementaria
NA	Noradrenalina
NMDA	Receptor N-metil-D-aspartato
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud

PGE2	Prostaglandina E2
PIB	Producto interno bruto
RTK	Receptor de tirosina cinasa
SNC	Sistema nervioso central
THC	Thin layer chromatography
TRPM	Transient receptor potential menthol
TRPV1	(por sus siglas en inglés) Transient Receptor Potential, Vanilloid 1
VIH/SIDA	Virus de inmunodeficiencia humana/Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
5-HT	5- hidroxitriptamina

RESUMEN

En México el uso de plantas medicinales es de gran importancia debido a que son el primer recurso para cuidar la salud, sin embargo son pocas las especies que tienen evidencia científica de su uso. En el estado de Hidalgo existen las planta *Leucophyllum frutescens*, conocida como “cenizo”, usada para tratar el dolor de garganta y reumático y *Plantago lanceolata*, conocida como “Llantén menor” es utilizada para aliviar el dolor de muelas y de garganta. Debido a estos usos tradicionales y a que no existen evidencias científicas que demuestren su eficacia en el tratamiento del dolor, se evaluó el efecto antinociceptivo de los extractos etanólicos, las fracciones y el compuesto mayoritario aislado de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* a dosis de 316, 100 y 10 mg / kg, respectivamente comparado con tramadol a una dosis de 100 mg / kg e indometacina a dosis de 10 mg / kg como controles en ratones machos de la cepa CD1 mediante los modelos Writhing y Hot plate.

Concluyendo que los extractos etanólicos, las fracciones: acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica así como el compuesto mayoritario denominado acteósido aislado de las dos especies evaluadas mostraron actividad antinociceptiva con diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al vehículo (Tween 80) y similar a los fármacos de referencia en los modelos utilizados.

Palabras clave: *Leucophyllum frutescens*, *Plantago lanceolata*, antinocicepción, dolor, medicina tradicional y complementaria.

ABSTRACT

In Mexico the use of medicinal plants is of great importance because they are the first resource for health care, however few species have scientific evidence of their use. In the state of Hidalgo there are the *Leucophyllum frutescens* plant, known as "cenizo", used to treat sore throat and rheumatic and *Plantago lanceolata*, known as "Llantén menor" is used to relieve toothache and throat pain. Due to these traditional uses since there is no scientific evidence to prove its efficacy in the treatment of pain, the antinociceptive effect of ethanolic extracts, fractions and the isolated major compound of *L. frutescens* and *P. lanceolata* were evaluated at doses of 316, 100 and 10 mg / kg respectively compared to tramadol at a dose of 100 mg / kg and indomethacin at doses of 10 mg / kg as controls in male mice of the CD1 strain using the Writhing and Hot plate models.

In conclusion, ethanolic extracts, aqueous, ethyl acetate and chloroform fractions, as well as the majority compound, called acyteside isolated from the two evaluated species showed antinociceptive activity with significant difference ($p < 0.05$) respect to the vehicle (Tween 80) and Similar to the reference drugs in the models used.

Key words: *Leucophyllum frutescens*, *Plantago lanceolata*, antinociception, pain, traditional and complementary medicine.

I INTRODUCCIÓN

El dolor es considerado un problema de salud pública porque repercute de manera socioeconómica, además de ser el motivo más frecuente de consulta médica, tiene un impacto importante en la utilización de los servicios de salud, consumo de analgésicos y se considera que el costo del dolor en la totalidad (desde diagnóstico, hospitalización, medicamentos, rehabilitación, días de incapacidad y subsidios por invalidez) supone el 2.5% del producto interno bruto (PIB) de los países industrializados (1,2).

En la sociedad actual se está produciendo un cambio de actitud ante el dolor. En muchas situaciones, el dolor ya no es un síntoma de alerta, sino algo molesto, frecuente e inoportuno y evitable con una terapia adecuada en el paciente (3). Los enfermos y familiares reclaman cada vez con más insistencia, que les alivien el dolor para mantener la calidad de vida lo más digna posible. El hecho de que el dolor tenga un gran componente afectivo, hace que cada paciente lo experimente de una forma única. En cualquier caso, y especialmente cuando es crónico, afecta de manera muy negativa la calidad de vida del paciente, influyendo en sus relaciones personales y hábitos cotidianos (1,4).

Es por esto que el control o el alivio del dolor han constituido una de las principales motivaciones para el avance de la medicina a lo largo de la historia (5).

La definición más aceptada de dolor es la que lo considera como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión tisular real o potencial” (1,4–6).

El dolor clínico, puede ser dividido en dos categorías: dolor agudo (de corta duración y sin componente psicológico) y dolor crónico (duración ilimitada acompañado de un componente psicológico), siendo las diferencias tan peculiares entre ambos, tanto desde el punto de vista etiológico, fisiopatológico como terapéutico, que deben ser consideradas como dos entidades completamente distintas (4).

En México, existen pocos estudios epidemiológicos sobre la incidencia del dolor, sin embargo se estima que la prevalencia del dolor crónico es entre el 2% y el 40%, lo que

significa que 16 millones de mexicanos sufren de este tipo de dolor. Además, se reportó en el año 2005 que las principales causas de morbi-mortalidad se asocian al dolor (3)

Cifras de los Estados Unidos de América informan que cada año el 15-20 % de la población total experimenta dolor agudo y existen al menos 116 millones de adultos (más que el número de adultos afectados por enfermedades cardíacas, diabetes y cáncer) que sufren de dolor crónico y 34 millones sufren de dolor leve a moderado de tipo no maligno (2,7). Al tratar el dolor, se evitan un gran número de alteraciones orgánicas y psicológicas, que son consecuencia de la situación álgica (6).

La población adulta mayor ha incrementado por ende la prevalencia de condiciones dolorosas como lo son la osteoartritis y el cáncer entre otras, que requieren de tratamiento eficaz y seguro del dolor. El Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI) ha reportado que las enfermedades cardíacas, la diabetes tipo 2, el cáncer y los accidentes son la causa principal de mortalidad en la población mexicana, condiciones en las que generalmente se presenta dolor. Por lo que aproximadamente 2 millones de mexicanos sufren de dolor crónico (1,3).

El tratamiento actualmente disponible es eficaz, sin embargo va acompañado de efectos adversos comunes como son los gastrointestinales, alteraciones sanguíneas, erupciones exantemáticas, visión borrosa, alteraciones hepáticas, somnolencia, vértigo, náuseas, estreñimiento, entre otros (4).

Por otro lado, generalmente, la primera tentativa en el manejo de dolor es el uso de remedios caseros, productos herbolarios y auto medicación. La medicina tradicional y complementaria (MTC), es considerada la suma total de los conocimientos, capacidades y prácticas basadas en experiencias de diferentes culturas utilizadas para mantener la salud y es ampliamente utilizada de manera popular (8).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 80% de la población mundial ha utilizado de manera histórica la MTC para cubrir sus necesidades primarias en salud,

prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas, ya que la MTC es a veces la única fuente asequible de atención sanitaria, especialmente para los pacientes de escasos recursos del mundo. Por lo cual, la OMS desarrolló la primera estrategia global sobre MTC, cuyo documento fue publicado en el año 2002 para tratar los temas asociados con la política, la seguridad, la eficacia, la calidad, el acceso y el uso racional de la medicina tradicional, complementaria y alternativa (8,9).

De manera gradual más países han reconocido la contribución potencial de la MTC a la salud y el bienestar de las personas. Debido a esto, la OMS actualizó recientemente los objetivos del programa de medicina tradicional y publicó en el año 2013, la “Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023”, teniendo como objetivos, aprovechar la contribución potencial de la MTC a la salud, el bienestar y la atención de salud centrada en las personas; y promover la utilización segura y eficaz de la MTC a través de la reglamentación y la investigación, así como mediante la incorporación de productos, profesionales y prácticas en los sistemas de salud, según proceda (8,10).

La medicina tradicional es muy importante ya que es practicada en casi todos los países del mundo y nuestro país no es la excepción, sin embargo es en parte subestimada por la atención sanitaria. Por esto que se reconoce la necesidad de elaborar un enfoque coherente e integral de la atención de salud, que facilite a los gobiernos, los profesionales sanitarios y, muy especialmente, a los usuarios de los servicios de salud, el acceso a la MTC de manera segura, respetuosa, asequible y efectiva (8,10,11).

México es el cuarto país en biodiversidad en el mundo con aproximadamente 25,000 especies vegetales, de las cuales se estima que 4,500 poseen atributos medicinales, de éstas la validación química, farmacológica y biomédica sólo se ha llevado a cabo en un 5% y a detalle sólo 1% (12).

Es por ello que las especies medicinales constituyen un área de oportunidad para realizar estudios preclínicos que evalúen la actividad analgésica de los extractos de plantas utilizadas de manera tradicional como potenciales candidatos de prototipos de fitofármacos.

En el presente trabajo se realizó la evaluación del efecto antinociceptivo de las especies *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata*, mediante el uso de dos modelos de dolor certificados y avalados por el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP (International Association for the Study of Pain) en animales, bajo los lineamientos de las guías éticas para la experimentación con animales conscientes aprobado por el CIEQUAL, que serán útiles para el estudio y desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos (13,14).

II ANTECEDENTES

2.1. Generalidades

2.1.1 Definición del dolor en humanos y animales

El dolor es una percepción que se define según la IASP, como una experiencia sensorial desagradable asociada a un daño tisular real o potencial. (1,6,15,16).

En la actualidad no podemos conocer las sensaciones de un animal de investigación ya que obviamente no nos las puede comunicar lo que se hace es estudiar las reacciones de éstos ante estímulos nocivos de diversa naturaleza, es por ello que Zimmerman adaptó el concepto de dolor de la IASP, como una “experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales” (13,14).

2.1.2. Características del dolor

Las principales características del dolor son:

- Es desagradable
- Útil para la supervivencia(1)
- Es una experiencia subjetiva
- La percepción del dolor sin daño real se considera dolor (17,18).
- Hay la existencia de sufrimiento, miedo, ansiedad, estrés (16)
- Posee sus propias conductas (llorar, gritar, solicitar ayuda, etc.) (16)
- Tiene dimensiones: duración, intensidad, localización, cualidad y afecto(16).

2.1.3. Clasificación del dolor.

El dolor tiene diferentes formas de clasificarlo, en la tabla 1, se muestran las diferentes clasificaciones y subclasificaciones del dolor.

Tabla 1. Clasificación del dolor.

Clasificación	Subclasificación
Duración	Agudo o crónico
Patogenia	Neuropático, nociceptivo o psicógeno
Localización	Somático o visceral
El curso	Continuo o irruptivo
Intensidad	Leve, moderado o severo
Pronóstico	Difícil o fácil pronóstico
Farmacología	Sensible, parcial o escaso a opiáceos
Evolución	Fisiológico, agudo o crónico
Mecanismo fisiopatológico	Nociceptivo (somático o visceral), inflamatorio o neuropático

Fuente: Armero, 2004; Kopf, 2010; Rodríguez-Blanco, 2005 y Puebla, 2005 (15,17–19).

2.1.3.1. Dolor nociceptivo

De acuerdo con el mecanismo fisiopatológico se distinguen tres tipos de dolor: el dolor nociceptivo, inflamatorio y el neuropático (15).

El dolor nociceptivo o fisiológico (**Figura 1**) es el producido por la estimulación breve de los nociceptores de la piel y 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 y visceral (15).

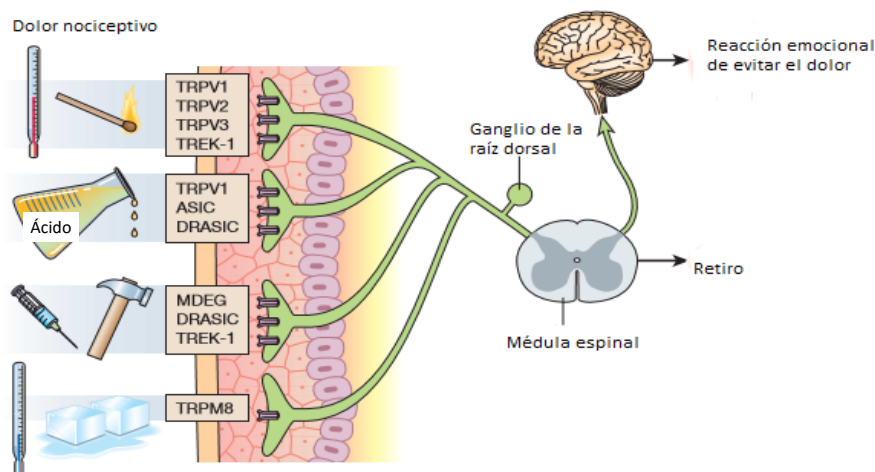


Figura 1. Fisiología del dolor nociceptivo ⁽¹⁾

2.1.3.1.1. Somático

El dolor nociceptivo somático es superficial cuando la lesión causante del dolor se localiza en la piel o en tejido celular subcutáneo y profundo en el caso de los dolores del sistema osteo-músculo-articular (16).

2.1.3.1.2. Visceral

El dolor nociceptivo visceral es aquel que tiene su origen en los órganos situados en las cavidades craneana, torácica o abdominal. Este tipo de dolor es difuso y pobremente localizado, se refiere a otros lugares diferentes al sitio de origen, y se acompaña de reflejos motores y vegetativos como náuseas y vómito. No todas las vísceras desencadenan dolor, por ejemplo, el hígado, el riñón, la mayoría de las vísceras sólidas y el parénquima pulmonar son insensibles al dolor. El dolor visceral es transmitido por fibras de tipo C y los mecanismos que excitan los nociceptores viscerales son: isquemia, espasmo o distensión de una víscera hueca y estímulos químicos específicos (16).

La isquemia genera liberación de catabolitos viscerales, que activan los nociceptores. El espasmo o la distensión de las paredes viscerales, generan dolor debido a la producción de isquemia relativa en los tejidos comprometidos. Finalmente, hay diversas sustancias químicas, ácidas o alcalinas, que pueden ocasionar irritación y verdadera necrosis química en los tejidos viscerales; como en la irritación ocasionada por el jugo gástrico o pancreático liberados a la cavidad abdominal en caso de lesiones como la perforación de una úlcera gástrica o la pancreatitis aguda (16).

2.1.3.2. Dolor inflamatorio

El dolor de tipo inflamatorio, involucra un daño tisular, (heridas, fracturas, desgarros musculares, etc.) presiones intensas que ocasionan isquemia, quemaduras, frío intenso y prolongado y lesiones químicas (por sustancias ácidas o alcalinas). Se inicia cuando las células dañadas activan mediadores químicos formando un “sopa inflamatoria” que activa o

modifica las propiedades de la respuesta al estímulo en los nociceptores aferentes. (**Figura 2**) (1,16).

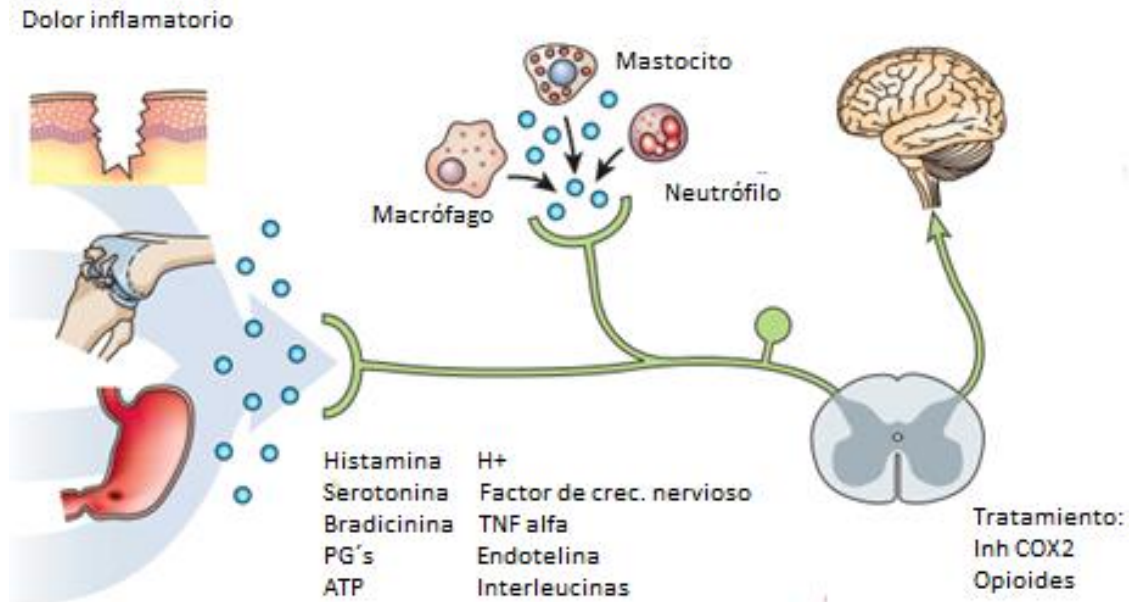


Figura 2. Fisiología del dolor inflamatorio ⁽¹⁾.

En este, el dolor se produce en respuesta a la lesión tisular, al sensibilizarse los nociceptores locales incluso a estímulos normales, como el tacto. Esta es una forma de sensibilización periférica, en el cual existe la necesidad de curación que generalmente desaparece después de que la lesión se resuelve. Este dolor se presenta en patologías como artritis reumatoide o gota. Es decir el dolor de tipo inflamatorio persiste mientras la inflamación lo hace (6).

Las sustancias químicas liberadas por el proceso inflamatorio como la bradicinina, histamina, prostaglandinas, leucotrienos, acetilcolina, serotonina, los iones K⁺ y la sustancia P actúan sobre los nociceptores y modulan la transmisión de la sensación dolorosa. Las enzimas implicadas en la regulación de la síntesis de dichas sustancias también influyen en la regulación de la sensación dolorosa (**Figura 3**) (15,16).



Figura 3. Algunos productos químicos liberados por el daño de tejido que estimulan los nociceptores ⁽¹⁹⁾.

Las sustancias químicas proinflamatorias que son liberadas al haber daño tisular y al ser estimulados los nociceptores de manera nociva se mencionan en la tabla 2 (19).

Tabla 2. Sustancias químicas que estimulan a los nociceptores.

Sustancia	Fuente
Potasio	Células dañadas
Serotonina	Plaquetas
Bradicinina	Plasma
Histamina	Mastocitos
Prostaglandinas	Células dañadas
Leucotrienos	Células dañadas
Sustancia P	Nervios primarios aferentes

Fuente Kopf y Patel, 2010 (19).

2.1.3.3. Dolor neuropático

Este tipo de dolor se produce por el estímulo directo del sistema nervioso central o por la lesión de vías nerviosas periféricas. Se describe como punzante, quemante, acompañado de parestesias y disestesias, hiperalgesia, hiperestesia y alodinia. Son ejemplos de dolor neuropático la plexopatía braquial o lumbosacra postirradiación, la neuropatía periférica postquimioterapia y/o postradioterapia y la compresión medular (18)

2.1.4. Anatomía del dolor

2.1.4.1 Receptores sensoriales

El mecanismo del sistema nervioso para la detección de estímulos nocivos (fuerzas mecánicas fuertes, temperaturas extremas, privación de oxígeno y exposición a ciertos productos químicos), es muy importante ya que dispara procesos de supervivencia que protegen contra el daño tisular accidental como el intencional (19).

La información de nuestro entorno es captada por los receptores sensoriales o sensitivos, los cuales son estructuras anatómicas capaces de responder ante determinados estímulos como tacto, sonido, luz, dolor, frío, calor, etc. Codifican la información y característica de dicho estímulo y la convierten en un potencial eléctrico que se transmite por una vía periférica hasta los niveles centrales del sistema nervioso (5). Dicha señal se transmite desde el receptor mediante una serie de neuronas (periféricas hasta niveles altos) y relevos sinápticos hasta regiones cerebrales específicas denominándose el proceso sensorial (20).

Los receptores sensoriales han sido clasificados con varios criterios, en la tabla 3, se resumen los tipos de receptores y sus características en función de la respuesta que presentan ante el estímulo:

Tabla 3. Tipos de receptores sensoriales según el tipo de respuesta ante el estímulo.

Tipo de receptor sensorial	Características
Receptores de adaptación rápida	Sólo envían señales eléctricas cuando comienza o termina el estímulo. Si el estímulo es continuo, el receptor deja de responder (se adapta). Proporciona información sobre los cambios en la estimulación (tacto).
Receptores de adaptación lenta	Envían señales eléctricas mientras persiste el estímulo, son los involucrados en la nocicepción y en la sensación de posición corporal.

Fuente: Vilallonga, 2012 (5,20).

2.1.4.2. Fibras nerviosas aferentes

Las fibras aferentes que provienen de los receptores periféricos siguen el trayecto de los nervios hasta penetrar en la médula espinal por el cuerno dorsal. El cuerpo celular de estas fibras está situado en el ganglio raquídeo de la raíz dorsal. Los axones de los nervios periféricos fueron clasificados por Erlanger y Gasser como fibras A, B y C, y dentro de las fibras A se distinguen los subgrupos alfa, beta, gamma y delta. Las fibras A y B son mielinizadas, las fibras C no tienen vaina de mielina. Las terminaciones nociceptivas se originan a partir de dos tipos: fibras A δ y fibras C (5,21,22).

Las fibras A δ son de diámetro más grande (**Figura 4**), nervios ligeramente mielinizados que conducen impulsos nerviosos a una velocidad de 20 m / segundos = 72 km / h. Estas responden a estímulos térmicos y mecánicos (15,19). Constituyen en la piel un 10 % de las fibras aferentes sensitivas, relativa a sensaciones localizadas con precisión (15). Su estimulación provoca una sensación de dolor que es definido como rápido, agudo o punzante (23).

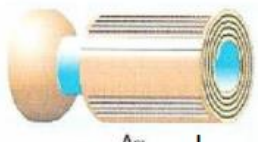
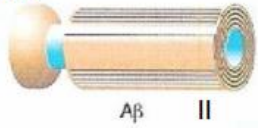


Receptores sensoriales	Axones sensoriales	Diámetro (mm)	Velocidad de conducción (m/seg)
Propiocepción Propioceptores del músculo esquelético	 A α I	13 -- 20	80 -- 120
Tacto, presión, vibración Mecanorreceptores de la piel	 A β II	6 -- 12	35 -- 75
Tacto, frío, dolor Receptores para el dolor, la temperatura y parte de la sensibilidad táctil	 A δ III	1 -- 5	5 -- 30
Calor, dolor Receptores para el dolor y la temperatura	 C IV	.02 -- 1.5	0.5 -- 2

Figura 4. Fibras nerviosas aferentes ⁽²⁴⁾

Las fibras C no tienen vaina de mielina, constituyen el 70 % de las fibras sensitivas de la piel, son de diámetro reducido, conducen el impulso nervioso a una velocidad de 2 m / segundo = 7.2 km / h, son polimodales pues responden a la presión, temperatura (>5°C y <45°C), estímulos químicos (endógenas y exógenas) u otro tipo de estímulos silente (distensión y estiramiento). El dolor que se experimenta al activarse es lento, retrasado, embotado, sordo, indefinido o duradero. (15,19,25).

2.1.4.2. Nocicepción

El término nocicepción (del latín nocere, “dañar”) se refiere al proceso sensorial y a los fenómenos biológicos que son por la acción de estímulos nocivos sobre el organismo, antes de que esa información sea consciente. En la nocicepción se incluye: la actividad de los nociceptores, la transmisión de los potenciales de acción, el funcionamiento de las diferentes sinapsis a lo largo de las vías ascendentes, etc. Debe tenerse presente que no siempre la nocicepción da lugar a la percepción de dolor (16,19,26,27).

Nocicepción y dolor, son conceptos distintos, es decir una persona con el tejido dañado que debería producir sensaciones dolorosas puede no mostrar comportamiento indicante de dolor, la nocicepción lleva al dolor (19).

2.1.4.3. Nociceptores

Los nociceptores son los receptores del dolor, son terminales nerviosas no especializadas, libres, con poca mielina que convierten una variedad de estímulos nocivos (mecánicos, térmicos o químicos) en impulsos nerviosos y envían esta información en forma de potenciales de acción al sistema nervioso central a través de una fibra aferente primaria o central, es decir que el cerebro interpreta como “sensación de dolor” (19), la existencia de los nociceptores permite percibir la sensación dolorosa y ser transmitida hasta el sistema nervioso central (15,19).

Están localizados en tejido cutáneo, articulaciones, músculos y en las paredes de las vísceras. Los nociceptores se caracterizan por tener un umbral de respuesta muy alto, (sólo se activan con estímulos nocivos) actividad postdescarga (mantenimiento de las respuestas después de cesar el estímulo) y sensibilización (aumentan su excitabilidad tras una estimulación continuada) (21,28).

Los cuerpos de las células nerviosas están localizados en los ganglios de la raíz dorsal y para el nervio trigémino, en el ganglio del trigémino, éstos envían un extremo de fibra de nervio a la periferia y el otro a la médula espinal o tronco cerebral (19).

2.1.4.3.1. Clasificación de los nociceptores

La clasificación de los nociceptores se basa en el tipo de estímulo que los active, en la tabla 4 se muestra la clasificación y características de los nociceptores:

Tabla 4. Clasificación de los nociceptores.

Nociceptor	Características
Mecánico	Se activan a partir de la aplicación de presión intensa sobre la piel, deformación tisular o cambios de la osmolaridad y, por tanto, son receptores con un umbral de activación elevado. (5).
Térmico	Responden ante temperaturas extremas, superiores a 45 °C o inferiores a 5 °C.
Polimodales	Constituyen el grupo más numeroso. Se activan ante estímulos intensos, de tipo mecánico, térmico o químico, que causan destrucción tisular.

Fuente: Vilallonga, 2012 y Cantabria, 2014 (5,20).

2.1.5. Fisiología del dolor

Existen múltiples mecanismos que producen dolor: la nocicepción, la sensibilización periférica, los cambios fenotípicos, la sensibilización central, la excentricidad ectópica, la reorganización estructural y la disminución de la modulación. La nocicepción es el único mecanismo que causa dolor nociceptivo y comprende los procesos de transducción, conducción, transmisión y percepción (29).

2.1.5.2. Transducción

El proceso del dolor inicia al activarse los nociceptores periféricos, este primer proceso es denominado *transducción* en la cual el estímulo térmico, mecánico o químico nocivo, se transforma en un impulso eléctrico (potencial de acción). Este proceso esta mediado por receptores de canales iónicos específicos de los nociceptores (29).

Hasta el momento se desconoce el mecanismo por el que los estímulos inducen la despolarización de las terminaciones sensitivas pero se piensa que el receptor de la capsaicina (TRPV1) (Transient Receptor Potential, Vanilloid 1), es el canal que permite el paso de iones a través de la membrana plasmática al abrirse en respuesta a capsaicina o a temperaturas mayores de 43°C, iniciando así el potencial de acción en las neuronas nociceptoras que puede estar implicado en este proceso (30).

2.1.5.2.1. Receptores de superficie celular

El estímulo nocivo que involucra la liberación de mediadores inflamatorios activa a los nociceptores actuando directamente sobre uno o más receptores de la superficie celular, incluyendo receptores de tirosina cinasa (RTK), canales de potasio de dos poros (K2P), acoplados a proteína G (GPCR), canales TRP (receptor potencial transitorio), canales iónicos sensibles al ácido (ASIC), como se representa en la figura 5 (31).

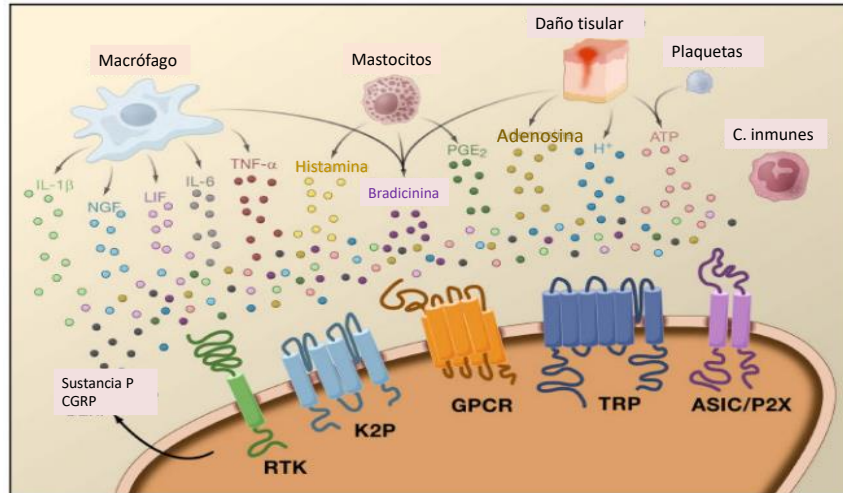


Figura 5. Receptores de superficie celular⁽³¹⁾

2.1.5.2.2. Canales TRP (Transient Receptor Potential)

La transducción se lleva a cabo mediante la participación de una familia de canales llamados TRP (Transient Receptor Potential) o Receptor potencial transitorio en la termo transducción. En los mamíferos se reconocen 20 canales TRP (**Figura 6**), con funciones sensoriales diversas: reconocimiento de la luz y de feromonas, dolor, mecano-sensación, gusto y termo transducción. En las células cancerígenas están sobre-expresados (32).

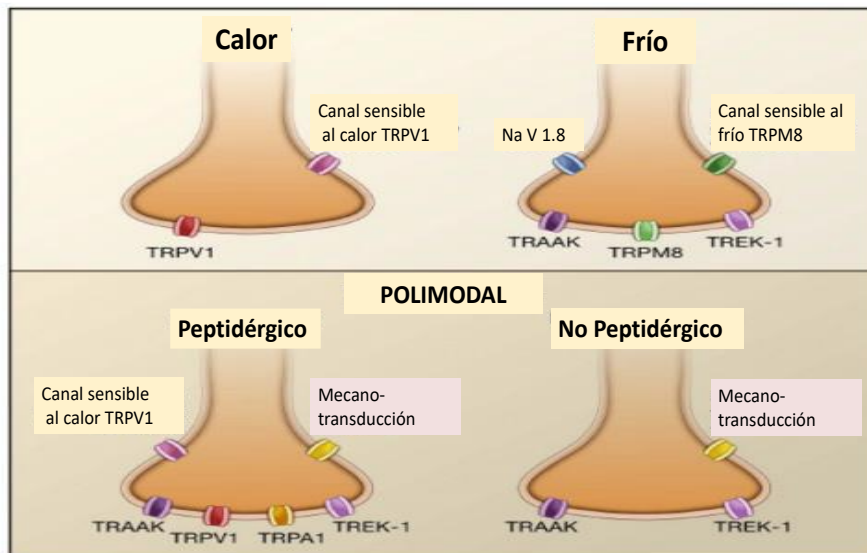


Figura 6. Diversidad de nociceptores ⁽³¹⁾

Han sido propuestos seis canales: TRPV1, TRPV2, TRPV3 y TRPV4 que son activados por el calor y TRPM8 y TRPA1 por el frío. Los canales TRP se ubican en la membrana celular, estos canales poseen permeabilidad no selectiva a cationes monovalentes y al Ca^{+2} ligeramente mayor para este último catión en relación al Na^+ ($\text{PCa} / \text{PNa} \geq 10$). Excepcionalmente, los canales TRPM4 y TRPM5 son selectivos a cationes monovalentes, mientras que los TRPV5 y TRPV6 lo son al Ca^{2+} . Dichos receptores constan de una terminación nerviosa dotada de canales iónicos especializados, los cuales al ser activados por estímulos específicos, promueven modificaciones transitorias y graduales en la permeabilidad de la membrana, que inducen corrientes iónicas despolarizantes o hiperpolarizantes (32).

Existe diversos nociceptores que expresan transducción específica o no específica. Los nociceptores aferentes sensibles al calor expresan TRPV1, los sensibles al frío expresan TRPM8. Los aferentes mecanosensibles expresan una o más mecanotransducciones a canales aún no identificadas. Estas fibras expresan una serie de canales de sodio (tales como NaV (1,8 y 1,9) y canales de potasio que modulan la excitabilidad del nociceptor y contribuyen a la propagación del potencial de acción. Estos subtipos pertenecen a fibras C (31).

2.1.5.2.2.1. Estructura primaria de los canales TRP

La estructura primaria común de los canales TRP se asemeja a la de los canales de K^+ . En general constan de 6 subunidades transmembranales, de las cuales 2 conforman el poro central (S5 y S6) y las demás constituyen un tetrámero que rodea dicho poro (S1-S4) (**Figura 7**) (32).

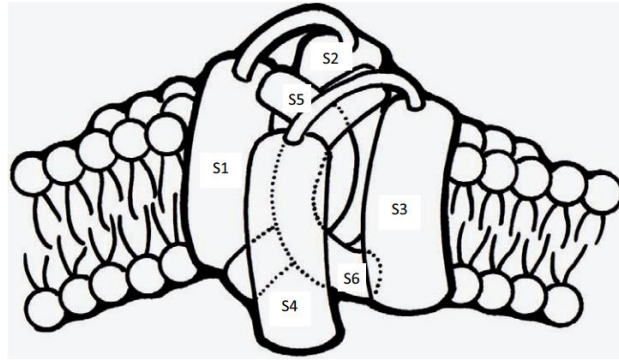


Figura 7. Estructura de nociceptores ⁽³²⁾

La permeabilidad a los cationes está definida en la hélice α , ubicada en el lado extracelular del poro; adicionalmente, las terminaciones citoplasmáticas de S6 forman una compuerta menor que regula la entrada de estos iones hacia el canal. Además de la estructura primaria, los canales TRP poseen dominios diferenciales que han definido su clasificación en diversas subfamilias (32).

2.1.5.2.1.2. Los mecanismos de apertura de los canales TRP

La activación de un receptor transmembranal induce la producción de trifosfato de inositol (InsP3) a través de la vía de la fosfolipasa C, lo que genera el vaciamiento de Ca^{2+} desde el retículo endoplasmático (**Figura 8**).

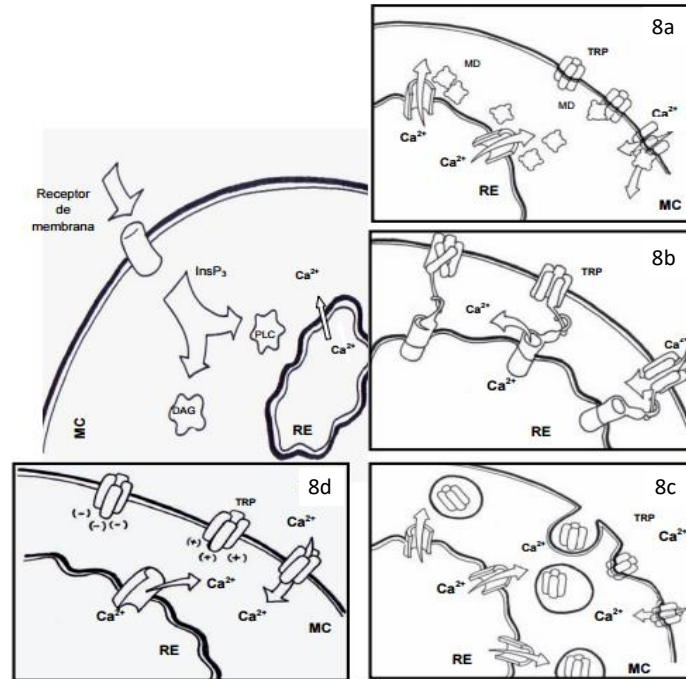


Figura 8. Mecanismos de apertura de canales TRPV1 ⁽³²⁾

InsP₃: inositol trifosfato, PLC: Fosfolipasa C, DAG: Diacilglicerol RE: Retículo Endoplasmático, MC: Membrana Celular, MD: Mensajero Difusible, TRP: Transient Receptor Potential ⁽³²⁾.

En consecuencia se abren los canales TRP de la membrana celular, por medio de 4 posibles mecanismos: figura 8a, La participación de un mensajero difusible, figura 8b, El acople directo entre los almacenes y el canal TRP, figura 8c, La fusión de vesículas que contienen canales TRP y figura 8d, La remoción de la inhibición del Ca²⁺ ⁽³²⁾.

2.1.5.3. Conducción o Transmisión del dolor

El estímulo de la fibra nerviosa da inicio a la *conducción o llamado también transmisión*, que es el paso del impulso nervioso desde la fibra o neurona periférica hasta la segunda neurona que se encuentra en el asta dorsal (posterior) de la médula espinal donde se liberan neurotransmisores, principalmente glutamato que actúa a nivel local sobre receptores de tipo AMPA (receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico) y NMDA (receptor N-metil-D-aspartato) como excitatorio y diferentes neuropéptidos ⁽¹⁵⁾.

Dependiendo del estímulo y del umbral se continúa la *transmisión* que es la transferencia sináptica de dicho impulso nervioso desde la médula espinal a través de las vías ascendentes a diferentes regiones del SNC, principalmente al tálamo a través de los haces o tractos espinotalámico, espinoreticular y cervicotalámico. Cabe mencionar que se proyecta al núcleo amigdalino implicado en el control de las emociones que interviene en el componente afectivo del dolor. Desde el tálamo, la información nociceptiva es transmitida a la corteza cerebral, donde reconoce estos impulsos nerviosos y se denomina la *percepción* o *reconocimiento* del dolor (1,28,29).

En resumen, una vez que las señales térmicas y mecánicas son transducidas por el terminal aferente primario o fibra nerviosa aferente o nociceptor, se inicia la transmisión o conducción de dicha señal en la cual el potencial de acción recibido activa una variedad de canales que facilitan el viaje de la señal hasta el cerebro, dependiendo del umbral y estímulo. Los canales de sodio y potasio controlados por voltaje son críticos para la generación de potenciales de acción que transmiten señales nociceptivas a las sinapsis en el cuerno dorsal. Los canales de calcio controlados por voltaje juegan un papel clave en la liberación de neurotransmisores, principalmente glutamato, desde las terminales centrales o periféricas de los nociceptores para generar dolor o inflamación neurogénica, respectivamente (15,31).

2.1.5.4. Modulación de la percepción de dolor

A nivel de la médula espinal se lleva a cabo la *modulación* en la cual están involucradas las proyecciones de las fibras periféricas y las descendentes de centros superiores. Es la señal, donde intervienen neurotransmisores como la sustancia P, serotonina, catecolaminas y péptidos opiáceos endógenos (15).

Existe una realidad objetiva y una subjetiva frente a un estímulo doloroso que implica la existencia de un mecanismo en el cuerpo que modula la percepción de dolor. Se piensa que este mecanismo proporciona la ventaja de la supervivencia aumentada en todas las especies (19).

Las vías del dolor tienen tres niveles de modulación (**Figura 9**): el nivel periférico, el medular y el supra segmentario o encefálico (19).

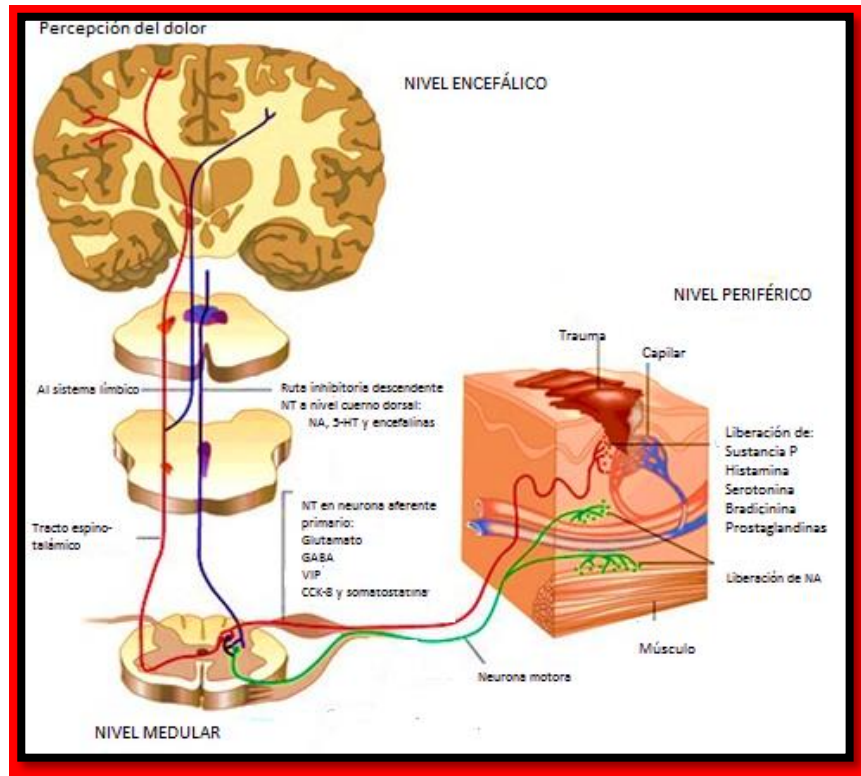


Figura 9. Tres niveles de modulación de dolor ⁽³³⁾

La transducción es modulada por varias sustancias químicas liberadas al haber un daño celular como: el potasio, las prostaglandinas y los leucotrienos provenientes de las células dañadas, la serotonina proveniente de las plaquetas, la bradicinina proveniente del plasma, la histamina proveniente de los mastocitos y la sustancia P proveniente de los nervios primarios aferentes y que produce vasodilatación e hinchazón. Estos mediadores influyen en el nivel de actividad nerviosa, de ahí la intensidad de la sensación de dolor (15,19).

Los mecanismos que modulan el dolor son: la inhibición segmentaria, el sistema opiáceo endógeno y el sistema nervioso inhibitorio descendente (19).

La inhibición segmentaria trata del bloqueo o disminución de la transmisión de la señal nerviosa proveniente de la periferia por la activación de las fibras grandes mielinizadas como

lo son la fibras A β , relacionadas a los mecanorreceptores de umbral bajo (tacto) al estimular un nervio inhibitorio que explica el porqué el frotamiento de un área herida reduce la sensación del dolor (19).

El sistema opiáceo endógeno es otro mecanismo que modula el dolor, se descubrieron con el opio e involucra la existencia de los receptores para dicha sustancia en las células nerviosas lo que indicaba que los productos similares eran producidos naturalmente por el organismo. Son tres grupos de compuestos endógenos (encefalinas, endorfinas y dinorfinas) que al unirse a sus receptores disminuyen el AMPc, bloquea canales de Ca⁺² y genera la salida de K⁺ con lo cual se hiperpolariza la célula nerviosa (15,19).

El sistema nervioso inhibitorio descendente involucra áreas del tronco cerebral que controlan la ascensión de la información nociceptiva generada en la periferia, los neurotransmisores de ésta vía son la serotonina y la noradrenalina (19).

2.1.5.5. Percepción del dolor

La percepción del dolor es la llegada a la corteza cerebral de la señal nerviosa generada en la periferia por los nociceptores principalmente al tálamo a través de la vía espino-talámica aunque se ven involucradas otras estructuras como el retículo bulbar, el mesencefálico. En este proceso es donde se produce el procesamiento definitivo de la sensación dolorosa (15).

El tálamo es el principal discriminador de la señal nerviosa nociceptiva ya que realiza el análisis del estímulo en relación a su duración, intensidad y localización, en el caso de ser necesario proyecta a áreas corticales y elabora reacciones motrices y emociones (15,27).

2.2 Antecedentes del problema

2.2.1 Datos epidemiológicos del dolor

El tratamiento del dolor es costoso ya que además de requerir tratamiento médico, es un obstáculo para el tratamiento de otros padecimientos concomitantes y limita la capacidad para trabajar en la sociedad. En México no se cuenta con datos epidemiológicos, sin embargo en el 2008, Estados Unidos reportó que cerca de 116 millones de adultos sufren de dolor crónico, incluyendo dolor en articulaciones o artritis lo cual afecta su calidad de vida y limita su estado funcional y el gasto anual total en 2010 fue de 560 a 635 billones de dólares, para los gobiernos federales y estatales el costo de los gastos médicos de dolor es de 99.000 millones de dólares (6).

En España se informa que el 80-85% de personas mayores de 65 años padecen enfermedades relacionadas con el dolor, además de que cada médico español asiste a un promedio de 181 pacientes con dolor al mes (7).

En Latinoamérica el dolor de espalda baja se considera como de alto impacto ya que afecta a la población económicamente activa, en México entre el 10 al 16% del total de consultas médicas se deben a este padecimiento. En comparación con el dolor nociceptivo o inflamatorio los individuos que sufren de dolor neuropático sufren de enfermedades más severas (34).

En la sociedad actual se está produciendo un cambio de actitud ante el dolor. En muchas situaciones, el dolor ya no es un síntoma de alerta, sino algo molesto e inoportuno y evitable con una terapia adecuada en el paciente. Al tratar el dolor, se evitan un gran número de alteraciones orgánicas y psicológicas, que son consecuencia de la situación algica (4).

2.2.2. Organismos internacionales para el estudio y tratamiento del dolor

Desde 1973 se fundó la IASP quien ha apoyado de manera constante las investigaciones de tratamiento de dolor en varios países. La IASP es una Asociación Internacional, no lucrativa, y multidisciplinaria en el área del dolor. Es la más grande de su tipo, fue fundada por el iniciador del movimiento de Clínicas del Dolor en el mundo, el Dr. John Bonica. Está dedicada a promover la investigación en dolor y promover un mejor cuidado de los pacientes con dolor. Dada sus características su membresía está abierta a científicos, médicos, dentistas, psicólogos, enfermeras, fisioterapeutas y otros profesionales de la salud que se encuentren trabajando de forma activa en la investigación en el área del dolor, o bien que estén interesados en su diagnóstico y tratamiento (26, 27).

La IASP, la Federación Europea de capítulos del IASP (EFIC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), han aceptado que el tratamiento del dolor es un derecho humano por ello lo publicó en el año 2004 durante la Primer Campaña Global Contra el Dolor. En la actualidad muchas personas sufren dolor (sobre todo de países en desarrollo) debido a varios problemas como la carencia de profesionales de la salud, el abasto y el temor de uso de medicamentos opiáceos, etc. Sin embargo el conocimiento de la terapia del dolor ofrece el alivio o mejora de los trastornos dolorosos presentados en padecimientos como el cáncer y el VIH/SIDA. Además por las limitaciones económicas la OMS ha propuesto que el futuro se deberá promover el tratamiento paliativo en lugar del curativo (19).

2.2.3. Organismos nacionales para el estudio y tratamiento del dolor

En México se fundó en 1981, la Asociación Mexicana para el Estudio y Tratamiento del Dolor (AMETD), que es una organización no gubernamental, y sin fines de lucro que se enfoca, como su nombre lo dice, al estudio y tratamiento de los síndromes dolorosos agudos o crónicos, y de tipo oncológico o no-oncológico (35).

En 1999 se publicó la NOM-062-ZOO-1999, “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”. Esta norma establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que deben cumplir las personas físicas o morales relacionadas en todos los campos con este

tipo de animales y tiene la finalidad de describir los procedimientos empleados para inducir de manera humanitaria la muerte de los animales (eutanasia) empleados en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza, con el propósito de eliminar o disminuir al mínimo el dolor y el estrés previo y durante el procedimiento; para lograrlo cualquier técnica aplicada debe causar en el animal: rápida inconsciencia, paro cardíaco y/o respiratorio y pérdida de la función cerebral. Además, debe reducir al mínimo la perturbación emocional, la incomodidad y/o el sufrimiento experimentado por la persona que lleve a cabo el procedimiento (37).

En 2014 se publicó en el Diario Oficial de la Federación (DOF), la Norma Oficial Mexicana: NOM-011-SSA3-2014, Criterios para la atención de enfermos en situación terminal a través de cuidados paliativos. Esta Norma tiene por objeto, establecer los criterios y procedimientos mínimos indispensables, que permitan prestar, por medio de equipos inter y multidisciplinarios de salud, servicios de cuidados paliativos (acciones para controlar el dolor) a los pacientes que padecen una enfermedad en situación terminal, a fin de contribuir a proporcionarles bienestar y una calidad de vida digna hasta el momento de su muerte, lo que involucra la terapia del dolor (38).

2.2.4. Evaluación del dolor

La algilogía es la ciencia que se encarga de la búsqueda de métodos que permitan “medir” con mayor exactitud el grado de dolor percibido por las personas. El dolor es subjetivo ya que cada persona sabe cuánto le duele por lo que medirlo es una tarea difícil para el investigador. Sin embargo se han desarrollado instrumentos y métodos para cuantificarlo (39).

2.2.4.1. Instrumentos de medición del dolor en humanos

Existen instrumentos diseñados para cuantificar el dolor (escalas algésicas), y con esto valorar la respuesta a un tratamiento determinado. Estos instrumentos miden el dolor subjetivo y los hay que miden una única dimensión y los hay multidimensionales, sin

embargo los más utilizados son los unidimensionales. Entre estos destacan: la escala numérica, escala visual analógica y la escala de expresión facial (**Figura 10**) (40).

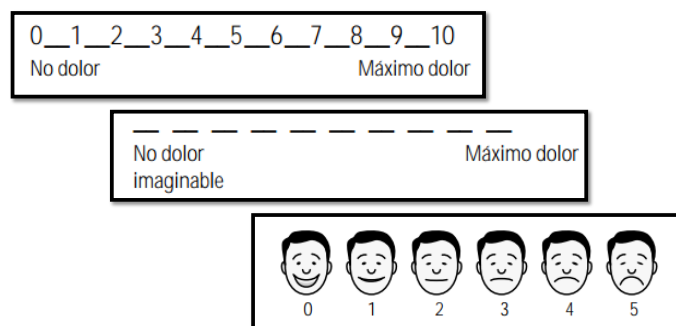


Figura 10. Instrumentos de medición del dolor en humanos: escala numérica, escala visual analógica y la escala de expresión facial ⁽⁴⁰⁾

La escala analgésica de la OMS es útil para iniciar el tratamiento del dolor y valorar su eficacia. Se utiliza seguida de la valoración del dolor mediante la escala de cuantificación del dolor, generalmente se utiliza la escala visual analógica (EVA). Se compone de peldaños secuenciales según la intensidad del dolor y la respuesta del paciente (28). Inicialmente se utilizan los analgésicos del primer escalón (**Figura 11**), si no hay mejoría (eficacia terapéutica), se inicia la combinación del segundo escalón y así sucesivamente (18,40).

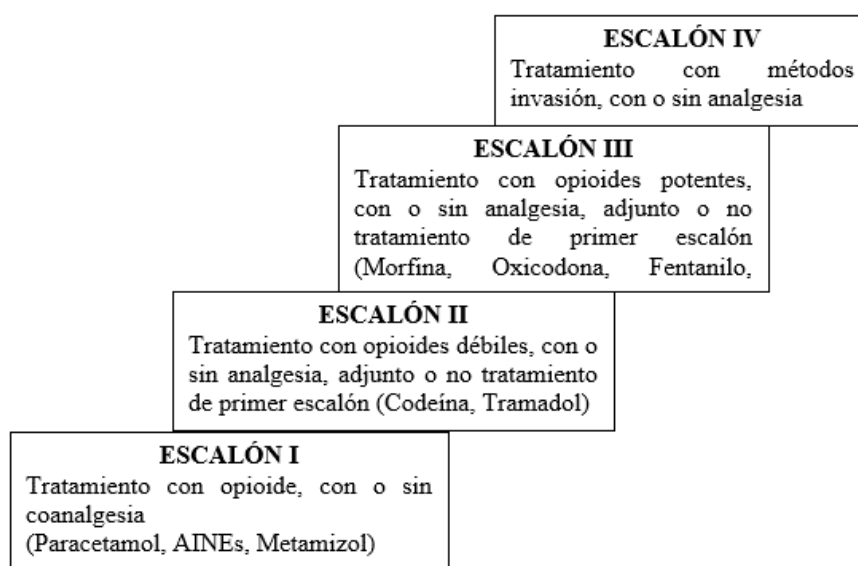


Figura 11. Escala analgésica de la OMS ^(18,41)

2.2.4.2. Medición del dolor en animales

Gran parte de la investigación biomédica, está orientada a conocer de la fisiología humana y animal por medio de observar los sucesos celulares y moleculares y explicar los fenómenos ocurridos en la salud y en la enfermedad. Algunas características de nuestro organismo son similares a las de otras especies, por lo que el utilizar animales para investigar procesos patológicos, desarrollar nuevos fármacos y procedimientos terapéuticos es de gran ayuda en la investigación (42,43).

Se sabe que todo el conocimiento científico y terapéutico de las enfermedades desarrollado durante el último siglo ha involucrado el trabajo con animales de laboratorio. Además se atribuye el rápido crecimiento del conocimiento médico después de 1800 al incremento del uso de animales de laboratorio. En 1900, al experimentar con animales se obtuvieron una tercera parte de los avances médicos, lo que ocasionó el surgimiento de movimientos antiviviseccionistas que buscan el bienestar animal o anticrueldad animal. Por lo que el desarrollar nuevos modelos animales con el fin de evaluar mecanismos patógenos y procedimientos diagnósticos y terapéuticos es de suma importancia (42).

2.2.4.3. Modelos animales de dolor

Un modelo de dolor es el procedimiento por el cual se valora la reacción de un animal de investigación ante un estímulo nocivo de naturaleza variada o situación patológica inducida que puede ser utilizado en circunstancias fisiológicas o patológicas. En este modelo valoramos la dimensión somática de la respuesta nociceptiva ante el estímulo y no valoramos la dimensión afectiva inherente al dolor (13).

El United States National Research Committee on Animal Models for Research on Aging define el modelo animal de laboratorio como “un modelo animal en el cual la normalidad biológica y de comportamiento puede ser estudiadas, o en el que se pueden investigar

procesos patológicos espontáneos o inducidos y en los cuales el fenómeno en uno o más aspectos se asemeja al humano o a otros animales” (42).

En ellos se trata de reproducir situaciones clínicas para permitir el estudio de alternativas terapéuticas útiles en la clínica humana. Dichos modelos deben caracterizarse por tener utilidad clínica, ser cuantificable, reproducible, tener coherencia interna, estar validado, cumplir requerimientos éticos (43).

Es necesario recurrir a los modelos experimentales en animales ya que no existe alguna simulación experimental como alternativa para estudiar la fisiopatología de las enfermedades. Los modelos para evaluar el dolor se establecen en 1941 con el modelo tail flick después llega el de placa caliente y posteriormente el de autonomía por sección nerviosa. Estos modelos valoran el dolor agudo por medio de la observación de la respuesta clara, los de dolor crónico son considerados más complejos debido a la evaluación de las conductas “sutiles” como: hiperalgesia y alodinia, (42) es decir existe la dificultad de reproducir todos los síntomas de la clínica humana (dolor espontáneo) lo que limita dichos modelos (44).

2.2.4.3.1. Principios éticos de los modelos animales de dolor

En la evaluación del dolor se considera la forma de ocasionar el dolor a los animales de experimentación, explicándolo con claridad y justificándolo. Con la intención de minimizar al máximo el sufrimiento del animal y en cumplimiento de las normas específicas de protección animal establecidas por los comités éticos de investigación animal de cada institución, se fundamentan en los principios éticos para la investigación en dolor enunciados por la IASP (13,44).

Dichos principios éticos incluyen principalmente: la existencia de un comité institucional, la justificación clara de la importancia y el beneficio de la investigación, el empleo de los mínimos estímulos dolorosos necesarios para los objetivos, el empleo de fármacos

analgésicos a menos que interfieran con el objetivo, la duración mas corta posible y con el número mínimo compatible para la certeza experimental (44).

2.2.4.3.2. Condiciones experimentales para producir el estímulo doloroso

Las principales incluyen: cuantificar la respuesta con poco daño, relacionar la intensidad del estímulo con la percepción, tener la sensibilidad para detectar analgésicos de baja potencia, permitir diferenciar dosis graduales, el estímulo debe iniciar rápido, controlar el tiempo y provocar la experiencia similar a la vida cotidiana (39).

2.2.4.3.3. Características de los modelos animales de dolor

Los modelos de dolor están justificados para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos para el alivio del dolor (13).

De los innumerables modelos de dolor agudo y crónico, los únicos validados por el Core Curriculum for Professional Education in Pain (CCPEP) de la IASP, son los que pretenden reproducir en relación a los tipos de dolor clínico, más importantes desde un punto de vista fisiopatológico (dolor nociceptivo, inflamatorio o neuropático) y cronológico (dolor fásico, tónico y crónico). En la tabla 5, se enumeran los modelos de dolor agudo y crónico validados por el CCPEP y se describen según su tipo fisiológico y cronológico (45).

Tabla 5. Modelos de dolor agudo y crónico validados por el CCPEP.

Modelo animal	Tipo fisiopatológico	Tipo cronológico
Tail-flick test	Somatogénico	Tónico
Hot-plate test	Somatogénico	Tónico
Estimulación pulpa dental	Somatogénico	Tónico
Test del formol	Somatogénico	Tónico-fásico
Modelos de artritis	Somatogénico	Crónico
Distensión de vísceras huecas	Visceral	Tónico-fásico
Inyección intraperitoneal de sustancias algógenas	Visceral	Tónico-fásico
Compresión/constricción de estructuras nerviosas	Neuropático	Crónico
Sección completa/parcial de estructuras nerviosas	Neuropático	Crónico

Fuente: González-Darder, 2000 (45).

2.2.4.3.4. Test de Hot plate (placa caliente)

El modelo Hot plate fue desarrollado por Woolfe y McDonald en 1944 (44), describe la respuesta nociceptiva de los ratones mediante el comportamiento de retirada (periodo de latencia) ante el estímulo térmico. La latencia de retiro se cuantifica como un máximo de 20 segundos para evitar el daño tisular. Este modelo permite evaluar la actividad analgésica de sustancias similares a los opiáceos mediante la aplicación de un estímulo térmico ya que evalúa la analgesia a nivel central abarcando mecanismos neurogénicos y centrales de la nocicepción (46). Es empleado para evaluar el efecto analgésico ante un estímulo agudo, ligado al reflejo supraespinal, que involucra receptores opioides $\mu 1$ y $\mu 2$ (46).

Es un test en el cual se deja libre al animal sobre una placa que se calienta progresivamente (hot-plate), se basa en el principio de que el roedor, colocado sobre una superficie caliente (50 ± 1 °C), demostrará los efectos de la estimulación, primero lamiendo sus patas y, posteriormente, tratará de escapar dando saltos como intento claro de escapar de la situación, momento en el que se enfría la placa. Se mide la latencia desde el inicio del calentamiento hasta la respuesta motora, dejando también un tiempo máximo de calentamiento (44). Las sustancias que cambian el umbral nociceptivo o lo aumentan

ocasionan mayor periodo de latencia (efecto analgésico). Las sustancias que lo disminuyen ocasionan hiperalgesia (47,48).

2.2.4.3.5. *Modelo Writhing (dolor visceral)*

En el modelo Writhing fue desarrollado por Carrol et al., en 1958 (49), se produce algesia mediante administración parenteral de ácido acético, un estímulo nocivo de tipo químico. La respuesta nociceptiva al ácido acético ocasiona inflamación aguda mediante la estimulación directa de las fibras aferentes nociceptivas a través de la disminución del pH o la síntesis de sustancias pro-inflamatorias como lo son el ácido araquidónico, lipooxigenasa, bradicinina, sustancia P, IL-1 β , IL-8, TNF- α , el metabolismo mediante la COX o la consecutiva síntesis de prostaglandinas (E α y F2 α) en el fluido peritoneal (tejido periférico), esto induce que el animal presente estiramientos o constricciones (50,51). La actividad nociceptiva del ácido acético se ha relacionado a que los macrófagos y los mastocitos peritoneales liberan citocinas, incluyendo el factor de necrosis tumoral α , la Interleucina β 1 y la 8 (52). La liberación de estas sustancias contribuyen a la permeabilización de la barrera hemato-encefálica (53).

Mediante este modelo se puede estimar el efecto analgésico en nociceptores periféricos en dolor de tipo visceral (dolor agudo, tónico-fásico), inducido por el estímulo químico. El dolor tónico-fásico está asociado con varios mediadores de la inflamación como la histamina, prostaglandinas, cininas, óxido nítrico y citocinas entre otros (49).

Se refiere al estímulo nociceptivo de estructuras viscerales, es decir, a los órganos internos, que se contraponen a las estructuras somáticas (piel, músculos, articulaciones, hueso y tejido conectivo). Hay una serie de estructuras que se encuentran en el límite entre el campo somático y visceral, como son las cavidades oral y nasal, faringe, inicio de la uretra y de la vagina y el canal anal. El dolor visceral recoge características muy diferentes del dolor somático, ya que es sordo, mal delimitado, con características descriptivas específicas, se asocia a hiperalgesia cutánea y es muchas veces referido (45).

Dentro de este punto se pueden considerar diferentes tipos de estímulos nociceptivos, como la estimulación eléctrica de nervios aislados o de vísceras, isquemia aguda de la víscera, así como diferentes tipos de agresiones mecánicas o químicas (45).

Entre los diversos modelos existen los tipo tónico o sostenido (formalina orofacial, contracción abdominal inducida por ácido acético) y de tipo fásico o intermitente (movimiento de la cola, ensayo de plancha caliente) (54).

2.2.5. Farmacoterapia del dolor

2.2.5.1. Concepto de analgésico

El término “analgésico”, según la OMS se refiere a los medicamentos que alivian o reducen el dolor. (55). Son los fármacos capaces de aliviar el dolor sin alterar significativamente el estado de conciencia (56).

En la bibliografía se describe que estas clases de fármacos poseen una historia sólida de investigación, desarrollo y uso clínico (57).

2.2.5.2. Objetivo del tratamiento del dolor

El tratamiento del dolor se inicia desde el año 3500 a. C., cuando el uso de los extractos del opio se consideraba la mejor forma de manejar el dolor. Sin embargo, con la experiencia de utilizarlos se observó que generan efectos adversos comunes e importantes como la tolerancia, dependencia (58).

El tratamiento ideal para el dolor de cualquier tipo está basado en controlar los factores etiológicos, mediante el uso de procedimientos farmacológicos (empleo de fármacos analgésicos) y no farmacológicos (bloqueo nervioso, relajación) (59).

2.2.5.3. Fármacos útiles en el tratamiento del dolor

El alivio del dolor es un principio básico y fundamental. Depende de la comprensión de los elementos anatómicos, fisiológicos bioquímicos y psicológicos a ésta experiencia sensorial. Ante la experiencia de dolor lo ideal es eliminar su causa, esto en ciertas ocasiones es posible pero en otras no, pero cuando el dolor es tan grave que es esencial el uso de analgésicos. El estado de analgesia es la insensibilidad o disminución de la sensación de dolor (56).

En la tabla 6, se mencionan algunos de los fármacos útiles en el tratamiento del dolor (56).

Tabla 6. Ejemplos de fármacos útiles en el tratamiento del dolor

Clasificación	Fármaco
Inhibidores de la COX ₁	Ácido acetilsalicílico
	Naproxeno
	Acetaminofén
	Indometacina
Inhibidores de la COX ₂	Celecoxib
Opioides agonistas	Morfina
	Meperidina
	Tramadol
Opioides agonistas-antagonistas	Nalbufina
Opioides antagonistas	Naloxona
Aduvantes de la analgesia	Carbamazepina
	Gabapentina
	Pregabalina
	Fluoxetina
	Fenitonina
	Nortriptilina
Anestésicos locales	Lidocaína
Anticolinérgicos	Atropina
	Butilhisocina
Relajantes musculares	Metocarbamol

Fuente: Rodríguez-Campos-Vidrio, 2007 (56).

2.2.5.3.1. Inhibidores de la Ciclooxygenasa

Llamados también antiinflamatorios no esteroideos (AINES), cuyo prototipo es el ácido acetilsalicílico. Constituido por numerosos miembros, como lo es la indometacina, utilizada en esta investigación como control positivo (56).

Estos analgésicos son considerados periféricos pues su sitio de acción principal es donde se genera el estímulo doloroso y sus propiedades farmacológicas dependen de su capacidad para inhibir la enzima Ciclooxygenasa (COX) y en consecuencia la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos (**Figura 12**) (56).

La inhibición de su síntesis impide el efecto sensibilizante y la sensación de dolor. Todos los fármacos de este grupo tienen propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias pero existen diferencias entre ellos (56).

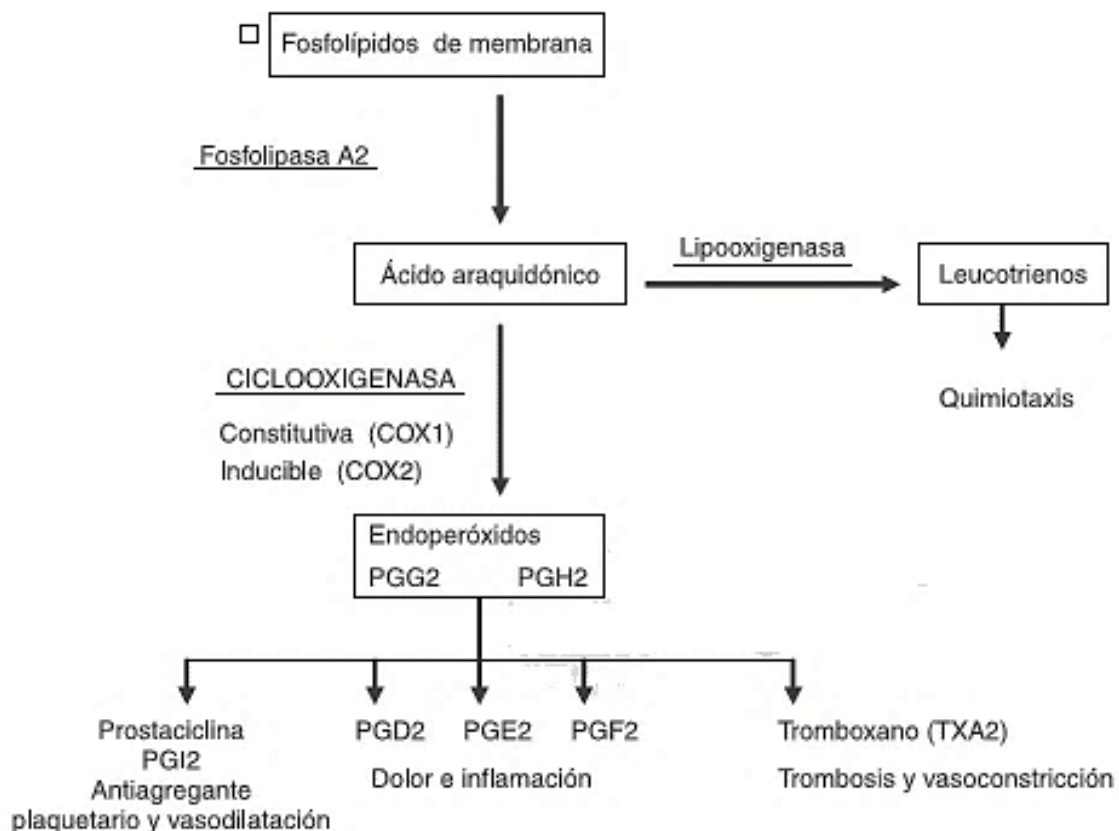


Figura 12. Síntesis de prostaglandinas y tromboxanos⁽⁶⁰⁾

Existen dos isoformas de esta enzima (**Figura 13**), (COX₁ y COX₂), la primera tiene una función homeostática y la segunda es inducida durante la inflamación. La mayor parte de los fármacos de este grupo inhiben ambas isoenzimas pero se han desarrollado algunos con acción selectiva sobre la COX₂ como el celecoxib. Sus reacciones adversas más importantes y frecuentes son gastrointestinales pero la administración crónica o en dosis altas, son irritación de la mucosa gástrica, propensión a ulceraciones gástricas e intestinales y sangrado gastrointestinal (hemorragia masiva ocasional) (56).

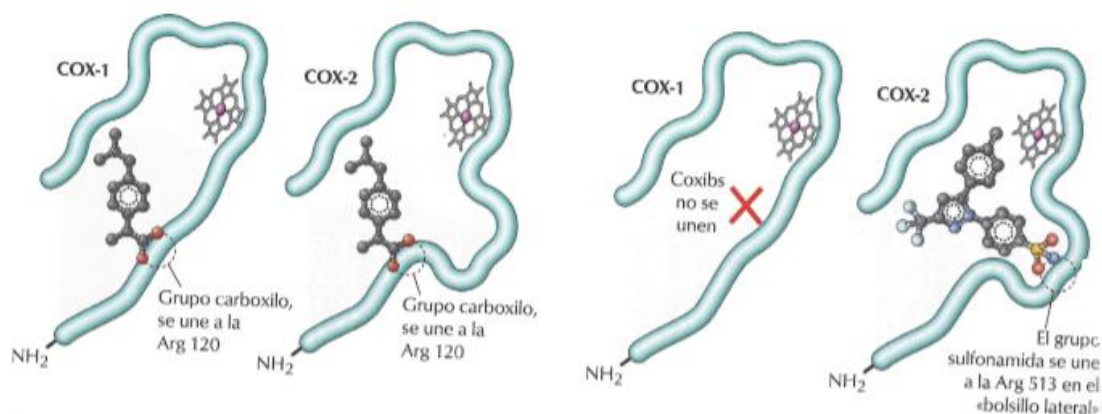


Figura 13. Mecanismo de acción de AINES y COXIBs ⁽⁶¹⁾

Además estos fármacos no se recomiendan en pacientes con antecedentes de úlcera péptica, hemorragia gastrointestinal, trastornos de coagulación y en niños que sufran algún proceso viral pues el ácido acetilsalicílico puede inducir un síndrome de Reye (56).

La indometacina (**1**) pertenece a este grupo de analgésicos, es un derivado del ácido indolacético, cuya estructura se muestra en la figura 14 (62).

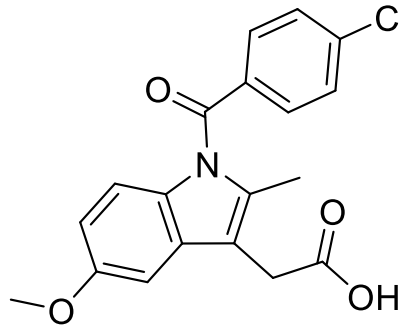


Figura 14. Estructura química de la indometacina (**1**) ⁽⁶²⁾

2.2.5.3.2. Opioides

Por sus acciones sobre los receptores endorfinérgicos (opioides) se clasifican en agonistas (morfina), en agonistas-antagonistas (nalbufina) y antagonistas (naloxona) (56).

Se les considera como analgésicos de acción central (**Figura 15**), su sitio de acción es el sistema nervioso central producen analgesia porque reducen o modifican el componente afectivo o emocional de la experiencia dolorosa. Sus efectos centrales incluyen: sedación, somnolencia, dificultad para concentrarse, mejoría en el estado de ánimo, euforia, disminución de la motilidad gástrica, estreñimiento, náusea y vómito. Su efecto analgésico depende de su unión a los sitios específicos de la membrana neuronal (receptores mu, kappa, delta).

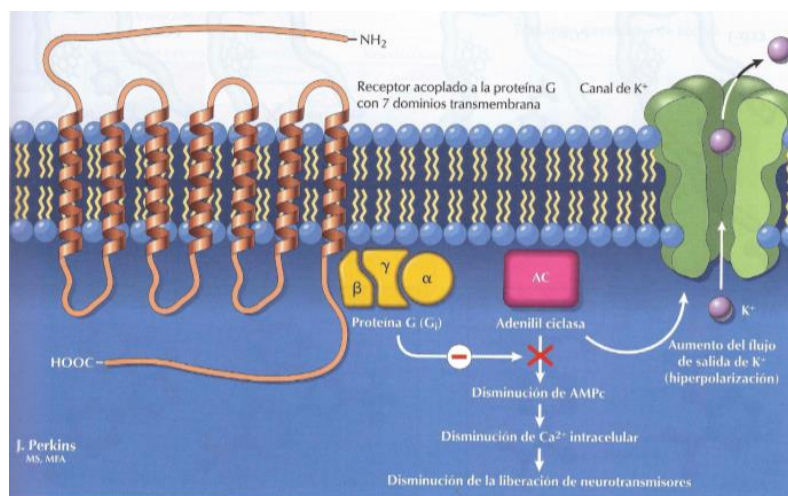


Figura 15. Mecanismo de receptor-transducción de los opioides ⁽⁶¹⁾

El alivio del dolor por este tipo de fármacos es relativamente selectivo, ya que no se afectan otras modalidades sensoriales. Son los analgésicos más poderosos disponibles y son de elección en pacientes con dolor grave. También cuentan con propiedades antitusígenas y son depresores poderosos del centro respiratorio (56).

Las reacciones adversas más frecuentes son estreñimiento, náuseas, somnolencia, prurito, mareo y vómitos. El 80% de los pacientes que consumen opioides experimentan al menos un efecto adverso (63).

Sin embargo su administración a largo plazo puede conducir a tolerancia (necesidad de aumentar progresivamente la dosis para lograr el mismo efecto analgésico) y al desarrollo de dependencia física (manifestaciones de carencia cuando se suspende su administración) (6). La depresión respiratoria es el problema más frecuente y grave de su uso por lo que puede presentarse en pacientes con insuficiencia respiratoria, enfermedad cardíaca, cirugía torácica y en mayores de 70 años (56).

A pesar de su eficacia probada, este tipo de fármacos producen efectos secundarios no deseados que limitan su uso prolongado pero a la fecha son los fármacos de elección para el tratamiento de dolor moderado a severo (64).

El clorhidrato de tramadol (2) (**Figura 16**), es un opioide sintético derivado del aminociclohexanol, analgésico de acción central (26,65).

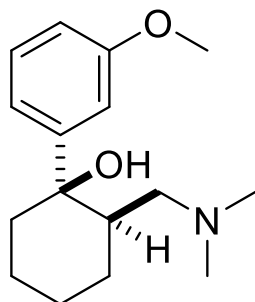


Figura 16. Estructura de tramadol (2) ⁽⁶⁶⁾

El tramadol es una sustancia farmacológica única que actúa de dos formas:

1. Como agonista de los receptores opiáceos, efecto leve sobre los receptores μ .
2. Como activador de la inhibición espinal monoaminérgica del dolor, es decir inhibe la recaptación de serotonina y noradrenalina por lo que modula las vías descendentes del dolor (65,67).

Estos dos mecanismos de acción son complementarios. Se une moderadamente a los receptores μ_1 y μ_2 , inhibe a la noradrenalina (NA), inhibe la recaptación de serotonina (5-hydroxitryptamina); además de potencializar la inhibición de las vías descendentes del dolor (65,67).

2.2.5.3.3. *Adyuvantes de la analgesia*

Útiles en ciertos tipos de dolor, como el neuropático, entre estos se encuentran: algunos agonistas adrenérgicos alfa (clonidina), antidepresivos tricíclicos (nortriptilina, amitriptilina), anticonvulsivos (carbamazepina, gabapentina, pregabalina) y ansiolíticos (diazepam) (56).

Dentro de este grupo destacan los anticonvulsivos, como la carbamazepina cuya acción parece guardar relación con su capacidad de activar los receptores del ácido gamma aminobutírico (GABA) (**Figura 17**), unidos a los canales de cloro e inducir la activación de este sistema inhibitorio. La fenitoína, que aumenta el umbral del dolor y acorta la duración de los ataques porque inhibe la transmisión sináptica y las descargas neuronales (56).

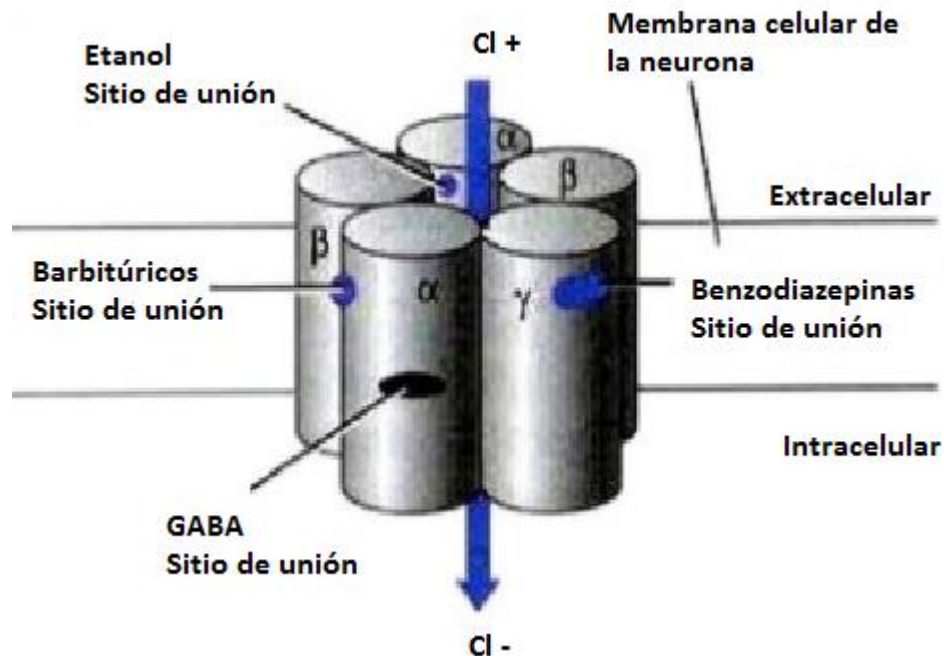


Figura 17. Mecanismo de acción de algunos adyuvantes de la analgesia ⁽⁶⁸⁾.

Además de los antidepresivos tricíclicos, pues inhiben la recaptura del mediador sináptico. Tienen la capacidad de alterar las concentraciones tisulares de monoaminas (norepinefrina/serotonina) o por interacción directa con sistemas endorfinérgicos. Estos fármacos son útiles en el alivio del dolor neuropático: neuralgia del trigémino, neuropatía diabética, neuralgia pos herpética y migraña (56).

2.2.5.3.4. Anestésicos locales

El lugar de acción es el cerebro, el mecanismo exacto es desconocido pero puede estar relacionado con la solubilidad en lípidos y la activación de los receptores GABA_A (aumento del flujo de la entrada de Cl⁻, hiperpolarización de las neuronas). Como actúan sobre la membrana neuronal y reducen temporalmente la permeabilidad a iones sodio, por lo que impiden la generación y la conducción del impulso nervioso (**Figura 18**) (61).

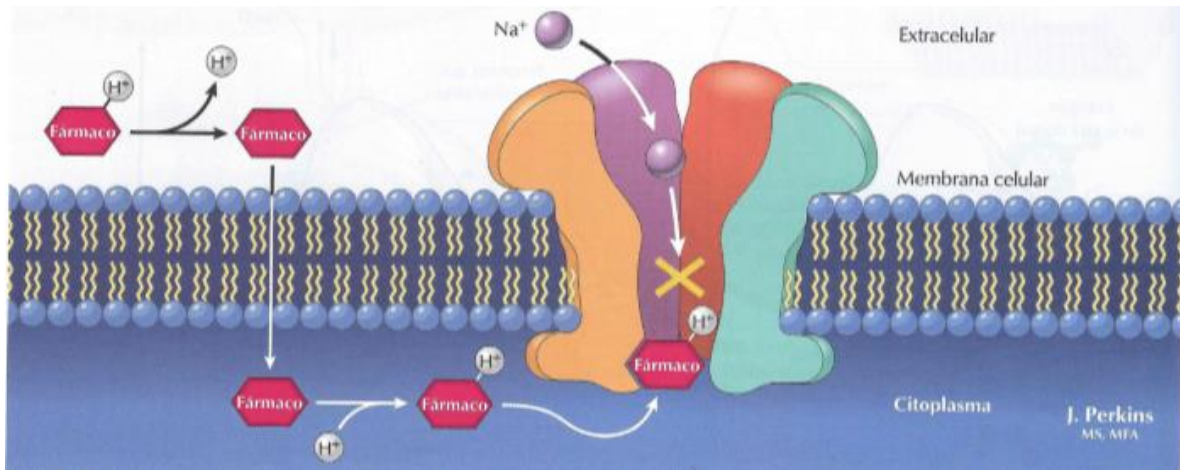


Figura 18. Mecanismo de acción de un anestésico local ⁽⁶¹⁾

El bloqueo de la conducción nerviosa aparece antes en las fibras propioceptivas y nociceptivas que en las táctiles y motoras por lo que a nivel clínico ocurre en ese orden, pérdida de la sensación de dolor, temperatura, tacto, propioceptiva y tono del músculo esquelético. Estos fármacos tienen propiedades antiarrítmicas por lo que no deben administrarse en casos de bloqueo cardíaco, bradicardia sinusal, insuficiencia cardíaca, hemorragia grave, hipotensión grave y estado de choque. Además pueden manifestarse reacciones anafilácticas. Estas reacciones adversas dependen de la dosis administrada (56).

2.2.5.3.5. Anticolinérgicos

Antiespasmódicos de musculo liso (atropínicos), como atropina, butilhisocina, dicilomina que compiten con la acetilcolina por los mismos sitios de enlace a nivel de los receptores colinérgicos muscarínicos y antagonizan de manera selectiva sus efectos. Por estas acciones anticolinérgicas disminuyen el tono y motilidad del músculo liso intestinal y gástrico e inhiben parcialmente, la actividad motora de uréteres y musculo liso de la vejiga. Por ello se les utiliza como tratamiento sintomático de dolor visceral que se desarrolla por espasmo o distensión de músculo liso. Las reacciones adversas corresponden a sus propiedades anticolinérgicas sistémicas: resequedad en nariz, boca, faringe y bronquios, taquicardia, estreñimiento, visión borrosa, midriasis, fotofobia, piel reseca caliente y enrojecida, dificultad para orinar, cefalea, dolor en ojos por aumento de la presión intraocular (56).

2.2.5.3.6. Relajantes musculares

Relajantes de musculo estriado como el metocarbamol, baclofén, carisoprodol y orfenadrina que relajan el músculo esquelético por acción sobre el sistema nervioso central, donde reducen la transmisión de los impulsos nerviosos de la médula espinal al músculo estriado. Algunos de ellos con propiedades anticolinérgicas y analgésicas que contribuyen al efecto de relajante muscular. Alivian el dolor por contracción de los músculos dorsales y el asociado con la esclerosis múltiple y lesiones de la médula espinal. Tienen reacciones adversa del tipo anticolinérgica como: resequedad de boca, visión borrosa, taquicardia, retención o urgencia urinaria, aumento de la tensión intraocular, estreñimiento, debilidad, náuseas, vómito, cefalea, excitación, irritabilidad, dificultad para dormir y temblor (56)

2.2.5.4. Datos epidemiológicos del uso de los fármacos analgésicos

Los fármacos opioides y los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son ampliamente utilizados en clínicas para el tratamiento del dolor (64). Los AINE son muy eficaces para el tratamiento de dolor moderado, pero su uso está limitado debido a irritación gastrointestinal. Entre los AINE, metamizol es una buena alternativa debido a su alta eficacia y buena tolerabilidad gástrica y es ampliamente utilizado en América Latina, Alemania y otros países europeos (64).

Los anestésicos locales actualmente disponibles son seguros si se emplean con precaución, teniendo en cuenta las características farmacológicas y la individualización del caso del paciente en el momento de elegir el fármaco, la dosis y la ruta de administración. Se puede presentar toxicidad local y sistémica como reacciones alérgicas que amenazan la vida y por ello, es necesario el monitoreo durante su uso para el reconocimiento temprano y la instauración de medidas terapéuticas y de soporte oportunas (69).

En 2013 se publicó que según cifras obtenidas de la base de datos ECOM (Especialidades de consumo de medicamentos) del Ministerio de Salud en España, el consumo de opioides aumentó en 14 veces desde 1992 al 2006 (63).

En el 2007, se reportó que de agosto a noviembre los tipos de medicamentos más vendidos con o sin prescripción en las farmacias de Ciudad Juárez, México fueron los analgésicos (incluyendo de todo tipo) con un valor de 92 de un total de 468 medicamentos (70).

En un estudio sobre la prescripción y el consumo de medicamentos orales dispensados en dosis unitarias en un Hospital de tercer nivel, se concluyó que los analgésicos son el tipo de medicamento más prescrito y consumido representado por el 35.43%, entre los años 2007-2011 en dicho hospital (71).

2.2.7. Medicina tradicional y complementaria

2.2.7.1. Concepto de la medicina tradicional y complementaria.

Según la Organización Mundial de la Salud, la Medicina tradicional, es la suma total de los conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales (8).

La Medicina complementaria, o “Medicina alternativa” alude a un amplio conjunto de prácticas de atención de salud que no forman parte de la tradición ni de la medicina convencional de un país dado ni están totalmente integradas en el sistema de salud predominante. En algunos países, esos términos se utilizan indistintamente para referirse a la medicina tradicional (8).

El término Medicina tradicional y complementaria (MTC), fusiona los términos “medicina tradicional” y “medicina complementaria”, y abarca productos, prácticas y profesionales (8).

2.2.7.2. Importancia del uso de la Medicina Tradicional y Complementaria

De acuerdo con estadísticas de la OMS, las plantas son utilizadas por 80% de la población mundial para satisfacer o complementar sus necesidades médicas. Se estima que anualmente en todo el mundo se facturan 60 000 millones de dólares por concepto de comercialización de medicinas de patente elaboradas con plantas medicinales (72).

La OMS reconoce que no existe un marco jurídico internacional que regule el acceso a las plantas mismas y su uso racional, ni la seguridad, eficacia y calidad de sus principios activos, pues a pesar de que persiste un arraigado uso de la medicina tradicional, su aplicación ha superado fronteras ancestrales de países y culturas (72).

2.2.7.3. Importancia de las plantas medicinales

Las especies vegetales han sido de gran importancia para el desarrollo del hombre en nuestro planeta ya que su conocimiento ha permitido mejorar sus condiciones de vida. Desde tiempos remotos se han utilizado como remedios naturales de enfermedades ya que éstas producen sustancias con efectos farmacológicos, de las cuales se han generado nuevos medicamentos (73).

La OMS define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Este conocimiento popular está basado en la eficacia, es decir, se acepta y adopta lo que se ve que sirve, lo demás cae en desuso; sin embargo, un problema de la medicina tradicional es la dificultad de llevar un control sobre la dosis y la calidad del producto, lo cual puede propiciar riesgos y daños a la salud (12).

México cuenta con gran riqueza biológica, diversidad de ecosistemas y variabilidad genética debido a su topografía y variaciones climáticas. En particular, posee una gran variedad de plantas útiles para el hombre: plantas que producen medicinas, combustibles, vestimenta, refugio, o satisfacen necesidades culturales. México ocupa el cuarto lugar entre los países considerados con megadiversidad biológica y posee cerca del 10 por ciento del total de las especies conocidas, con un gran número de endemismos. En el ámbito mundial, con respecto al número de especies de plantas, ocupa el quinto lugar, y se estiman en alrededor de 7,000 las especies con algún tipo de uso (12).

Se han identificado y registrado 4,500 especies con atributos medicinales (16% de la flora total mundial y aproximadamente, a 12.5% del total de la riqueza florística del país); entre 3,500 a 4,000 son empleadas por la población mexicana; 3,600 se recolectan de forma silvestre; 1,500 son utilizadas regularmente sin procesar; 370 se cultivan en el huerto familiar o de manera comercial; y 35 especies se encuentran amenazadas por factores externos. La validación química, farmacológica y biomédica sólo se ha llevado a cabo en

un 5% de las especies; solo 1% se ha estudiado de forma detallada esto marca un campo de estudio importante (12,72,74,75).

Rescatar el conocimiento empírico sobre plantas medicinales es de gran importancia para los pueblos indígenas y el público en general. Si bien los estudios fitoquímicos de estos vegetales son continuos, los avances logrados en la última década son pocos (74).

2.2.7.4. Empleo de especies vegetales en el estado de Hidalgo

Actualmente en el estado de Hidalgo, se continúa con el empleo de especies vegetales para el tratamiento del dolor. En la figura 19, se muestra el número de especies vegetales utilizadas en nuestro estado para tratar diferentes tipos de dolor en cuanto a su localización (76).

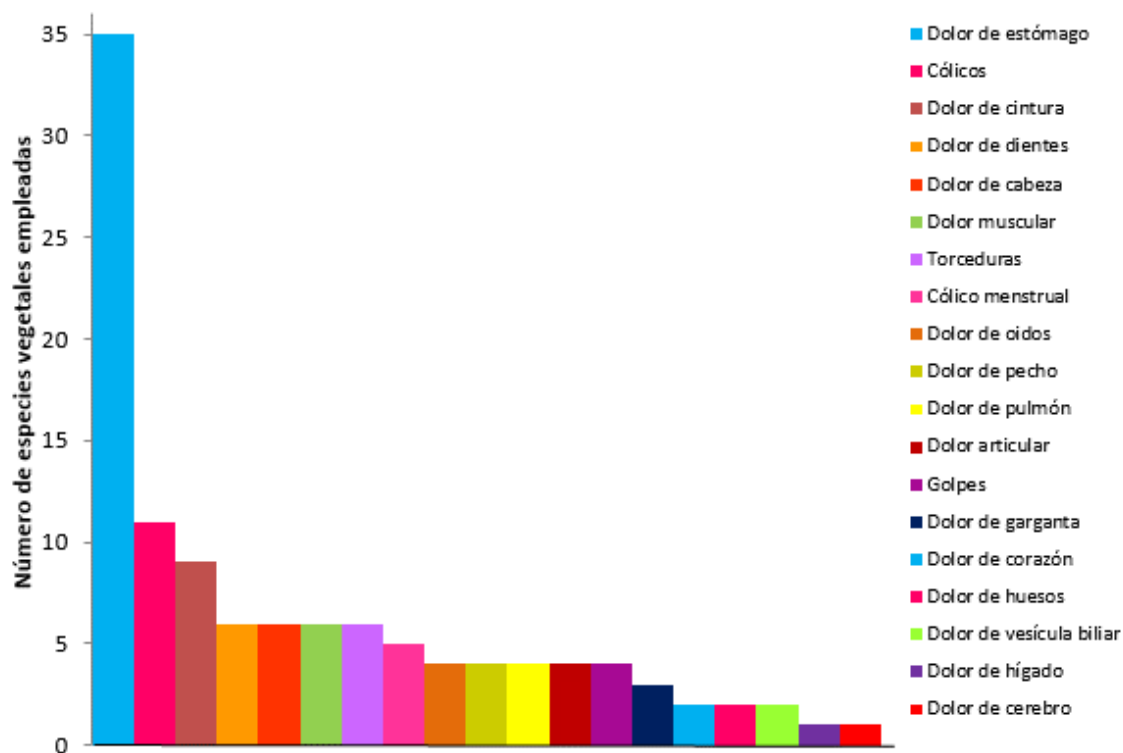


Figura 19. Número de especies vegetales utilizadas en el tratamiento del dolor, en el estado de Hidalgo ⁽⁷⁶⁾

Se cuenta con aproximadamente 100 especies utilizadas para tratar diferentes afectaciones del dolor entre las cuales tenemos: 35 especies utilizadas en el dolor de estómago, 6 en el dolor de dientes, 4 en dolor de oídos, 2 para el dolor de vesícula biliar, 2 en el dolor de riñón, 2 en el dolor de garganta, 2 para el dolor de corazón, 5 para el dolor de pulmón, 6 para el dolor de cabeza, 6 para el dolor muscular, 3 para el dolor de pecho, 2 para el dolor de cerebro, 9 para el dolor de cintura, 2 para el dolor de huesos, 4 dolor articular y 3 en general para el dolor (76).

2.2.8. *Leucophyllum frutescens*

2.2.8.1. Generalidades de la especie *Leucophyllum frutescens*

2.2.8.1.1. Taxonomía

Leucophyllum frutescens, (**Figura 20**), conocida como “cenizo” pertenece a la familia *Scrophulariaceae* la cual cuenta con 200-300 géneros y alrededor de 4900 especies (57,64,77).



Figura 20. *Leucophyllum frutescens* ⁽⁷⁸⁾

En la tabla 7, se menciona la taxonomía de la especie, el nombre también fue derivado de las especies europeas de *Scrophularia*, fueron utilizadas para tratar la “scrofula” o escrófula (proceso infeccioso que afecta los ganglios linfáticos cervicales), una forma de tuberculosis transportada en la leche de las vacas infectadas. También se utilizaron para tratar las hemorroides, que se conocían como “higos”, por lo que se les conoce como la familia figwort (higo) (79).

Tabla 7. Taxonomía de la especie *Leucophyllum frutescens*

Reino	Plantae
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Scrophulariales</i>
Familia	<i>Scrophulariaceae</i>
Tribu	<i>Leucophylleae</i>
Género	<i>Leucophyllum</i>
Especie	<i>L. frutescens</i>

Fuente: (Berland) I.M. Johnston, 1924 (57).

2.2.8.1.2. Distribución

Leucophyllum frutescens (Berl) IM Johnst, es conocida como “cenizo”, esta especie es originaria de Texas, Nuevo México, al norte de México en los estados de Coahuila y Nuevo León, crece desde estos lugares y hasta la parte central de nuestro país en el estado de Hidalgo. También es cultivada en la Florida y el sureste de Asia, en zonas áridas y semiáridas. Crece no muy alto y tiene muchas ramas. Hojas grises. Las flores crecen como campana, con un tamaño de 25 mm, y de color lila. Tres veces florece al año, crece junto a gatuno y chaparro prieto (57,80,81).

2.2.8.1.3. Descripción botánica

Tiene forma de arbusto semi-redondo, caducifolio, mide entre 0.9 a 2.5m de altura, sus hojas son alternadas, pubescentes y ovaladas o elípticas color azul-gris o lilas y florece tres veces al año (57,77). En la familia *Scrophulariaceae* se comprenden de 200-300 géneros y de 4000-5000 especies (57,64,77).

2.2.8.1.4. Uso etnobotánico

En México de manera tradicional se utiliza para tratar infecciones pulmonares (tuberculosis), en procesos febriles, tos, asma, diarrea, disentería, desórdenes del hígado y dolor reumático. También se utiliza para tratar la vesícula (11,57,64,77,81).

En la página de la Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana emitida por la Universidad Nacional Autónoma de México menciona que el uso medicinal de esta especie es para la gripa, “para la tos que no para”, tomada como té y dándose baños con ella. Esto sucede cuando empieza el frío, sale líquido de nariz y ojos, hay dolor de garganta, cabeza y calentura”(82).

2.2.8.1.5. Evaluaciones químicas y farmacológicas a la especie *Leucophyllum frutescens*

En 1999, Rimando et al., realizaron el aislamiento de cuatro lignanos (epiyangambina (3); diayangambina (4); diasartemina (5) y epiasantina (6)) (Figura 21) y concluyeron que epiyangambina tiene actividad fitotóxica con *Agrostoloneracv pennrose* y *Lactucativa sativa* L. en microensayo. Epiyangambina fue el más fitotóxico para *L. sativa*, que muestra una fuerte actividad inhibitoria a 110 mM. Los compuestos mostraron actividad antimitótica a una concentración de 500 mM en raíces de cebolla (57,83).

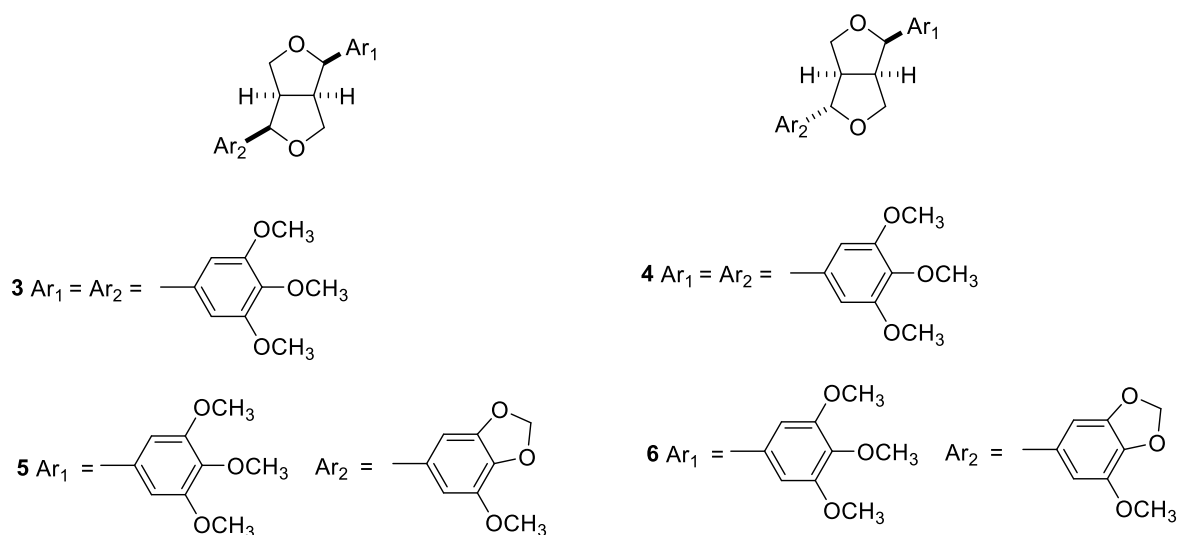


Figura 21. Estructura de los lignanos tetrahidrofurofurano aislados de *Leucophyllum frutescens*. diayangambina (3), epiyangambina (4), diasartemina (5) y epiasantina (6) ⁽⁸³⁾

En 2007, Alanís-Garza et al., realizaron un screening de actividad antifúngica de plantas del noreste de México y obtuvieron que el extracto hidro-alcohólico de *L. frutescens* sí mostró la actividad antifúngica, contra *Histoplasma capsulatum* en concentración de 250 µg/mL (84).

En 2007, Balderas-Rentería et al., demostraron que el extracto metanólico de *L. frutescens* tiene efecto hepatoprotector en el daño ocasionado por tetracloruro de carbono (CCl₄) en ratas Wistar albinas a una dosis administrada de 100-200 mg / kg (81).

En 2007, Molina-Salinas et al., aislaron del extracto metanólico de la raíz de *L. frutescens* leubetanol (7) (**Figura 22**), un diterpeno de tipo serrulatano con actividad a cepas multirresistentes y exhibió actividad antituberculosa a una concentración mínima inhibitoria 6.25-12.5 µg/mL (77).

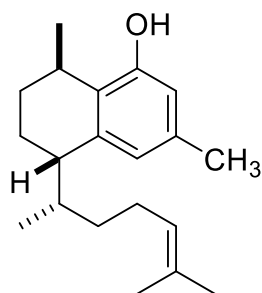


Figura 22. Estructura de leubetanol (7) aislado de *Leucophyllum frutescens* ⁽⁸⁰⁾

En 2012, Alanís-Garza et al., encontraron que en una de las fracciones aisladas del extracto hexánico de la raíz de *L. frutescens* se aisló un furanolignano (**Figura 23**), que tiene actividad moderada contra *M. tuberculosis* a una CMI de 63 µg/mL (85).

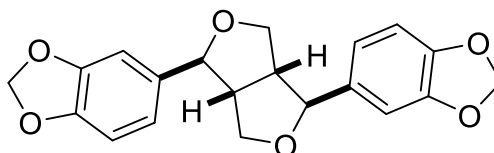


Figura 23. Estructura de furanolignano: 2'5''-dimetoxisesamina (8), aislado de *Leucophyllum frutescens* ⁽⁸⁶⁾.

En 2013, Vega-Menchaca et al., demostraron la actividad antimicrobiana del extracto metanólico crudo de *Leucophyllum frutescens* Var. (*Berl*) (“cenizo”) contra la cepa *Staphylococcus aureus* a tres concentraciones 1000, 500 y 250 µg/mL con una CMI de 25.4 µg/mL y su citotoxicidad en el ensayo de *Artemia salina* el extracto presentó toxicidad con una DL₅₀ de 196.37 µg/mL y resultó activa sobre líneas celulares VERO encontrándose una IC₅₀ de 58.0 µg/mL (57).

En 2013, Lu et al., realizaron la síntesis total y la confirmación estructural del compuesto antibacteriano leubethanol a partir de *L. frutescens*. En la figura 22 se observa la estructura química de leubetanol (7) (80).

En 2015, Francisco J et al., cuantificaron los fenoles totales y reportaron la actividad antioxidante del extracto metanólico de *L. frutescens* (planta silvestre y tejido *in vitro*). El contenido de fenoles y la capacidad antioxidante fue mayor en el extracto proveniente de la planta silvestre. Mostrando una actividad antioxidante por su contenido de fenoles totales con 120.22 y 78.78 µg/mL de equivalentes de ácido gálico, DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) con CE₅₀ de 213.96 y 283.27 µg/mL y ABTS (2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico]) con 97.58 y 108.27 µg/mL de equivalentes de Trolox. (87).

2.2.9. *Plantago lanceolata*

2.2.9.1. Generalidades de la especie *Plantago lanceolata*

Plantago lanceolata (**Figura 24**), pertenece a la Familia *Plantaginaceae* su nombre común es “llantén menor” o lanceolado, cuenta con aproximadamente 275 especies, pertenecen a las plantas medicinales más utilizadas en todo el mundo (88,89).

Es una planta perenne que alcanza entre 20 y 50 cm de altura. Sus hojas están dispuestas en una roseta basal, son paralelinervias y presentan una forma linear-lanceolada que pueden ser de hasta 20 cm de largo. Sus flores son pequeñas, de color marrón claro, y forman espigas cilíndricas sobre largos pedúnculos acanalados más altos que las hojas (90).

El llantén menor o lanceolado se encuentra distribuido por toda Europa y Asia septentrional y en México se ha registrado en Baja California, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Estado de Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Querétaro y San Luis Potosí (76,90).



Figura 24. *Plantago lanceolata* ⁽⁹¹⁾

2.2.9.1.1. Taxonomía

En la tabla 8, se menciona la taxonomía de la especie *Plantago lanceolata*.

Tabla 8. Taxonomía de la especie *Plantago lanceolata*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Fanerógama Magnoliophyta
Subclase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Plantaginales</i>
Familia	<i>Plantaginaceae</i>
Género	<i>Plantago</i>
Especie	<i>Plantago lanceolata</i> L.

Fuente: Menéndez Valderrey, 2006 (92).

2.2.9.1.4. Uso etnobotánico

Plantago lanceolata, es utilizada de manera tradicional en el tratamiento de resfriados comunes, infecciones del sistema respiratorio, para calmar y suprimir la tos, como antiviral, antimicrobiano, anti-inflamatorio o antioxidante, cicatrizante y para aliviar el dolor de garganta y de muelas (93).

Los estudios etnofarmacológicos han confirmado el uso tradicional de las especies de *Plantago* para el tratamiento de las infecciones de la piel, los trastornos digestivos, respiratorios, reproductivos y circulatorios, la aplicación contra tumores, el alivio del dolor de garganta y de muelas (93) y la reducción de la fiebre (94).

Las hojas del llantén menor se usan en afecciones de vías respiratorias altas, tales como catarros y en procesos inflamatorios de la mucosa bucofaríngea. Dicha acción se ha relacionado con el efecto emoliente de los mucílagos y las propiedades astringentes de los

taninos. También son usadas para aliviar afecciones inflamatorias de la piel (90,92). Se emplean en maceración, en forma de extractos fluidos y jarabes, así como el zumo de la planta fresca. La dosis media recomendada por la Comisión Evaluadora del Ministerio de Sanidad alemán es de 3-6 g de droga al día o la cantidad equivalente de sus preparados. Las hojas frescas trituradas o su macerado en forma de cataplasma se usan, en algunos países, contra úlceras varicosas, llagas, picaduras de insectos, etc., mientras que la decocción de las hojas se emplea contra afecciones inflamatorias del intestino (90).

Mediante análisis fitoquímicos de las especies de *Plantago*, se ha observado la presencia de una serie de constituyentes químicos como alcaloides, terpenoides, vitamina C, derivados del ácido caféico, cumarinas, grasas y aceites, compuestos fenólicos (flavonoides, taninos), iridoides, mucílagos, polisacáridos, esteroides y compuestos volátiles (88,95–97).

Los principales componentes fitoquímicos de importancia clínica potencial son compuestos fenólicos, predominantemente flavonoides y derivados de ácido hidroxicinámico (96).

2.2.9.1.5. Evaluaciones químicas a la especie *Plantago lanceolata*

Los componentes principales de la hoja del llantén menor son los iridoides heterosídicos. El mayoritario es la aucubina (**9**) (**Figura 25**) (0.3-2.5%), que va acompañada de catapol (**10**) (**Figura 26**) (0.3-1.1%) y asperulósido (**11**) (**Figura 27**) (94).

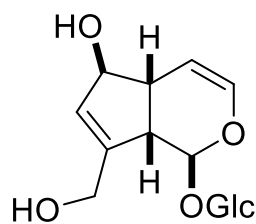


Figura 25. Estructura química de la aucubina (**9**) ⁽⁹⁴⁾

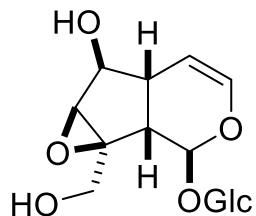


Figura 26. Estructura química de catapol (**10**) aislado de *P. lanceolata* ⁽⁹⁴⁾

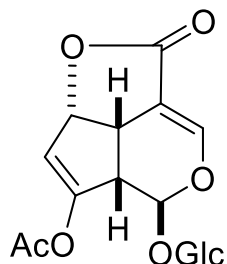


Figura 27. Estructura química de asperulósido (**11**) ⁽⁹⁴⁾

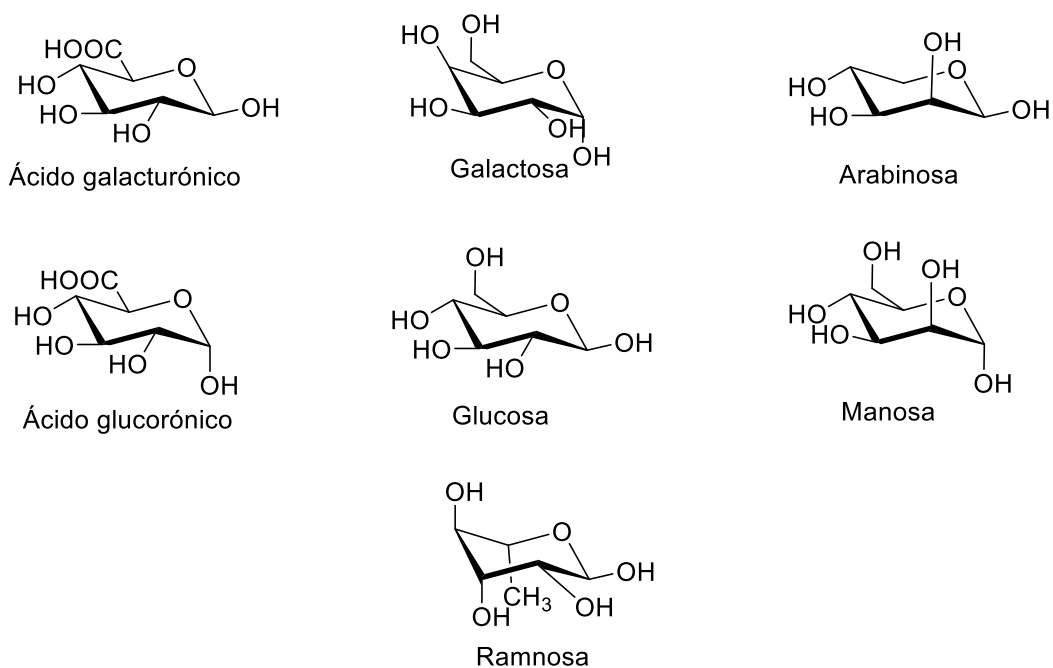


Figura 28. Estructura química de los mucólagos contenidos en *P. lanceolata* (**12-18**) ⁽⁹⁹⁾

En 1985, Bräutigam et al., caracterizaron el mucilago (**Figura 28**) de la fracción polisacárida cruda soluble en agua de las hojas de *P. lanceolata* y reportaron que estaba compuesta de: L-arabinosa (20%), D-galactosa (28%), D-glucosa (6%), D-manosa (2%), L-ramnosa), Ácido D-galacturónico (31%), ácido D-glucurónico (7%) y cantidades menores

de L-fructosa y D-xilosa (98). Se conoció que contiene un 6% de mucílagos con estructura de arabinogalactanos, ramnogalacturonanos, glucomananos y pectinas: ácido galacturónico (12), galactosa (13), arabinosa (14), ácido glucorónico (15), glucosa (16), manosa (17) y ramnosa (18) (94,98,99).

En 1995, Murai et al., aislaron cinco feniletanoides contenidos en *P. lanceolata*: acteósido, cistanósido, lavandulifoliósido, platamajósido e isoacteósido. Se conoce que contiene ácidos fenoles, como el ácido p-hidroxibenzoico; ácido protocatético; ácido gentísico; ácido caféico (19), y derivados de este último: ésteres cafeilquínicos: ácido clorogénico (20), plantamajósido (21) (Figura 29), acteósido (= verbascósido) (90,100).

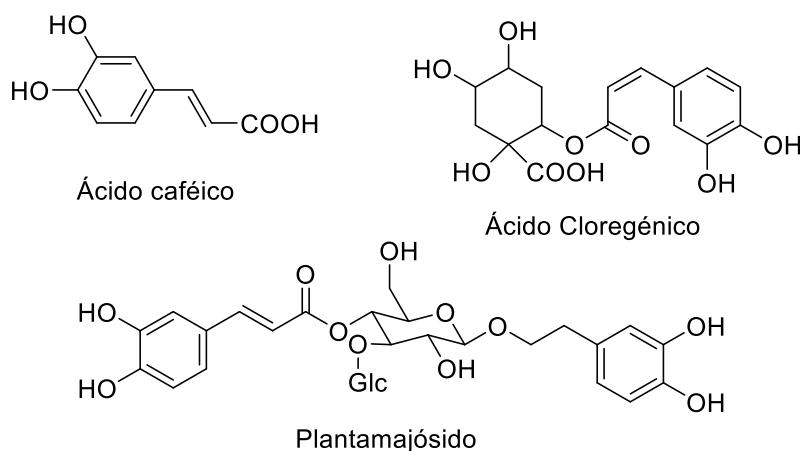


Figura 29. Estructura química de ácido caféico (19), ácido clorogénico (20) y plantamajósido (21) aislados de *P. lanceolata* ⁽⁹⁴⁾

Otros componentes son taninos, cumarinas, flavonoides y sales minerales con elevados porcentajes de zinc y potasio (90).

2.2.9.1.6. Evaluaciones farmacológicas a la especie *Plantago lanceolata*

2.2.9.1.6.1. Actividad antiinflamatoria

Los constituyentes que han mostrado actividad antiinflamatoria, particularmente atribuida a los iridoides heterosídicos: aucubina (9) (Figura 25) y los derivados del ácido caféico (19-21), como el plantamajósido y el acteósido (22) (Figura 30) (90).

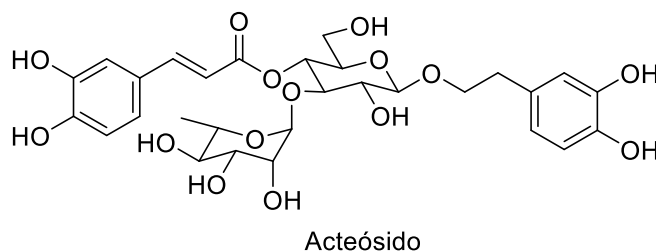


Figura 30. Estructura química de Acteosido (22) ⁽⁹⁴⁾

Este último ha demostrado también actividad antioxidante. Los extractos acuosos preparados en frío, extractos fluidos y el zumo de la planta fresca han mostrado actividad antibacteriana, mientras que los preparados en caliente no han mostrado esa actividad. Ésta se atribuye al aglicón de la aucubina, denominado aucubigenina, liberado por una α -glucosidasa. Durante la infusión o decocción, esta enzima se destruye por efecto de la temperatura, impidiéndose la hidrólisis de la aucubina y la liberación del principio activo (90).

En 1981, Shipochliev et al., evaluaron la actividad antiinflamatoria de 6 extractos vegetales liofilizados de diferentes plantas, en ratas albinas Wistar induciendo la inflamación mediante la inyección simultánea de carragenina y prostaglandina E1. El extracto liofilizado de *Plantago lanceolata* L fue útil para suprimir tanto el efecto inflamatorio como la infiltración de leucocitos (101).

En 1995 Murai et al., evaluaron la actividad antiinflamatoria de los cinco feniletanoides de *P. lanceolata*, en edema de oreja en ratón utilizando ácido araquidónico. Los feniletanoides acteósido y platamajósido mostraron actividad antiinflamatorio al ser aplicados de manera tópica (30 μ l) en la oreja derecha del ratón 30 minutos antes del ácido araquidónico (20 μ l) (102).

En el año 2003, Herold et al., investigaron *in vitro* si el extracto hidroalcohólico normalizado de las hojas de *P. lanceolata* pueden suprimir en sistemas libres de células las actividades de 5-lipoxigenasa y COX-2 que son enzimas clave en la formación de eicosanoides pro-inflamatorios del ácido araquidónico. *Plantago lanceolata* mostró una eficacia significativa con respecto a la inhibición de la actividad dosis-dependiente de la COX-2 (103).

En 2005, Vigo et al., investigaron el efecto del extracto de *P. lanceolata* sobre la producción de óxido nítrico (NO) y prostaglandina E2, NO sintasa (NOS) tipo II, ciclooxigenasa-1 (COX-1 y COX-2), expresión de RNAm en el murino, línea celular de macrófagos J774A.1. Encontraron que los extractos de *Plantago lanceolata* inhibieron la producción de NO en una forma dependiente de la concentración en esta línea celular, sin efectos citotóxicos evidentes. El extracto de *P. lanceolata* en todas las dosis utilizadas mostró una importante eliminación de los radicales no liberados por el donante. Se ha demostrado que el pretratamiento con estos extractos inhibe significativamente NOS inducible (iNOS) y la producción de mRNA en esta línea celular, sin afectar la expresión de mRNA de COX-1. Los niveles de mRNA de COX-2 y los niveles de PGE2 inducidos por lipopolisacárido / interferón no se modificaron tras el pretratamiento con los extractos. Por lo tanto, estos investigadores sugieren que las propiedades anti-inflamatorias de *Plantago lanceolata* puede reflejar la disminución de la producción de NO, posiblemente debido a los efectos inhibitorios (104).

En 2007 Hausmann et al., evaluaron el efecto de acteósido en el tratamiento de la colitis en ratones Balb / c. Se utilizó sulfato de dextrano sodio (DSS) para inducir la colitis y se trataron con acteósido (120, 600 mg /Ratón / día) se realizó por vía intraperitoneal. Se determinaron las longitudes de colon. El tejido colónico se evaluó histológicamente (puntuación máxima 8) por un investigador cegado. Las células T aisladas de los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN) fueron estimulado con anticuerpo anti-CD3 en presencia de interleucina IL2 (Concentración final 10 U / mL). Después de la incubación durante 24 h, IL-1b, IL-6, IL-12. Factor de necrosis tumoral (TNF) -a e interferón (IFN) -g en sobrenadantes fueron analizados mediante el sistema de detección de citoquinas beadlyte®. Las marcas de tejido colónico revelaron que la aplicación de acteósido mejoró

significativamente la puntuación biológica. En la colitis aguda, la histología fue de 3,2 con acteósido frente a 5,2 con solución salina tamponada con fosfato (PBS) ($P < 0,02$). En la colitis crónica, tanto 120 mg (3.2 frente a 5.2) como 600 mg de acteósido (3.0 frente a 5.2) mejoraron significativamente la colitis (ambos $P < 0,02$) (105).

2.2.9.1.6.2. Actividad uterotónica

En 1981, el mismo año Shipochliev observó un aumento en el tono uterino al utilizar una preparación del extracto acuoso crudo (infusión) de *P. lanceolata* a una concentración de 1-2 mg / mL en una preparación de cuello uterino aislado de conejo y cobayo (106).

2.2.9.1.6.3. Evaluación de Toxicidad

En 1996, Romay et al., evaluaron la toxicidad subcrónica bucal del extracto fluido de *P. lanceolata* en la especie *Mongolian gerbil* (*Meriones unguiculatus*) machos, de 60 g de peso su objetivo principal fue observar si dicho extracto producía algún daño de las estructuras bucales y el resto del tracto digestivo, al aplicarse en la boca de forma tópica dos veces diarias durante 15 días. La administración no produjo alteraciones histopatológicas en la mucosa ni en el resto del tracto digestivo por deglución secundaria (107).

En 1996, Ramos-Ruíz et al., evaluaron las propiedades mutagénicas de los extractos acuoso y etanólico de varias especies medicinales, entre ellas *P. lanceolata* mediante el empleo de un ensayo con placas con *Aspergillus nidulans* D3, que permitió la detección de la segregación somática como resultado del cruzamiento mitótico, mal segregación cromosómica o efectos clastogénicos que permitió la detección visual directa de segregantes. Como resultado, la especie *P. lanceolata* no mostró efecto genotóxico (108).

En el año 2000, Vizoso Parra et al., evaluaron la genotoxicidad de los extractos fluidos de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) mediante 2 ensayos: segregación mitótica en *Aspergillus nidulans* D-30 y la inducción de micronúcleos en médula ósea de ratón. En el

ensayo de segregación mitótica se evaluó con el extracto fluido con 5 y 6 concentraciones en un rango de 0,6 a 4,76 y 0,016 a 0,652 mg de sólidos totales/mL respectivamente. En el ensayo de inducción de micronúcleos se probaron dosis de 1,875; 3,750 y 6,000 g / kg peso corporal (pc). En ninguno de los ensayos realizados se detectó la ocurrencia de efectos citotóxicos y genotóxicos (109).

En el año 2000 Aktay et al., evaluaron siete plantas que se usan en la medicina popular turca para detectar posibles efectos hepatoprotectores, entre ellas *P. lanceolata*. Los tallos, brácteas y receptáculos de *Cynara scolymus* se utilizaron como fármacos naturales de referencia. Se evaluó el efecto del extracto etanólico de *P. lanceolata* (500 mg / kg) utilizando el modelo de hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en ratas macho Sprague-Dawley (150-180g), observándose ligera hepatoprotección en la medición de malonaldehído en plasma sin embargo no mostró hepatoprotección a nivel tisular (110).

En el mismo año Asero et al., caracterizaron los alérgenos para el polen de *P. lanceolata* e investigaron su reactividad cruzada. Utilizaron los sueros de cuatro pacientes monosensibles al polen de *Plantago* y de ocho pacientes con alergia al polen de hierba que ocasiona reactividad de la piel en la prueba “Skin prick test” (SPT) y se sometieron a análisis de inmunotransferencia con ambos. Se reconocieron tres alérgenos para *P. lanceolata* (111). En el año 2001, Calabozo et al., realizan la prueba de ELISA basados en anticuerpos monoclonales para cuantificar el alérgeno de *P. lanceolata* (Pla 1) y evaluar su correlación del contenido de éste con la actividad biológica y concluyen que dicho alérgeno es útil para estandarizar extractos de dicha especie destinada al uso clínico (112).

En 2006 Meyer et al., evaluaron la toxicidad del extracto acuoso y metanólico de *P. lanceolata* contra el nemátodo de nudos de raíz *Meloidogyne incognita*, los microbios beneficiosos *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma virens* y los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum f. Sp. Gladiolos*, *Phytophthora capsici*, *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*. Los tratamientos incluyeron concentraciones de extracto de 25%, 50%, 75% y 100%, y controles de agua. Los extractos fueron tóxicos para los huevos, etapa juvenil (J2) y demás etapas de la vida. No fue tóxico para ninguna de las bacterias o hongos en nuestros ensayos (113).

2.2.9.1.6.4. Actividad antioxidante

En el mismo año los mismos investigadores evaluaron el posible mecanismo del efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. lanceolata* estandarizadas a sustancias mucilaginosas. Se midió la propiedad antioxidante usando un ensayo colorimétrico y el potencial de barrido de radicales libres por medio de neutrófilos polimorfonucleares humanos activados (PMNs). Se observó un estado oxidante menor y la capacidad de atrapar radicales libres (114).

En 2005 Gálvez et al., evaluaron la actividad antioxidante del extracto metanólico de cinco especies de *Plantago*, entre ellas *P. lanceolata*, se caracterizaron por la prueba de barrido de DPPH y la Inhibición de la peroxidación lipídica inducida por Fe^{2+} / ascorbato en liposomas de cerebro bovino. *P. lanceolata* fue una de las más activas en el ensayo de inhibición de peroxidación lipídica, además investigaron la composición de los extractos por diferentes técnicas colorimétricas. Se encontró una alta correlación entre la potencia de barrido y el contenido total de fenol y fenilpropanoide de los extractos, pero no entre la potencia de peroxidación lipídica y la composición del extracto (115).

En 2007 Hausmann et al., obtuvieron que el acetato de feniletanoide aislado de *Plantago lanceolata* L. demostró tener un potencial antioxidante (105).

2.2.9.1.6.5. Actividad inmunomoduladora

En 2003 Ebringenova et al., aislaron polisacáridos crudos por extracción con agua de las hojas de *P. lanceolata* éstos fueron fraccionados y purificados mediante diversas técnicas. Los polisacáridos solubles en agua obtenidos se examinaron en cuanto a sus actividades inmunomoduladoras usando las pruebas mitogénicas y comitogénicas de timocitos de rata *in vitro*. Los resultados indican que a pesar de las diferencias considerables en la composición química y las propiedades estructurales, los polisacáridos probados exhibieron propiedades inmunomoduladoras significativas (116).

2.2.9.1.6.6. Actividad antihelmíntica

En 2006, Kozan et al., evaluaron la actividad antihelmíntica *in vivo* de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *P. lanceolata* a dosis de 100 mg / kg vía oral, mostrando actividad antihelmíntica significativa contra los gusanos, *Syphacia obvelata* y *Aspicularis tetraptera*, en ratones macho Swiss albino (20-25g) (117).

2.2.9.1.6.7. Actividad antiespasmódica

En 2007, Fleeer y Verspohl determinaron la actividad antiespasmódica del extracto etanólico de las partes aéreas de *Plantago lanceolata* L. en íleon y tráquea aislados del cobayo. También se investigaron los constituyentes aislados. El extracto de *P. lanceolata* inhibió las contracciones del íleon de cobaya que fueron inducidas por diversos agonistas tales como acetilcolina (ACh), histamina, potasio y iones de bario. Además, se inhibieron las contracciones de la tráquea inducidas por iones de bario. Los compuestos luteolina, acteósido, plantamajósido y catapol inhibieron las contracciones inducidas por ACh del íleon de cobaya. La luteolina y el acteósido redujeron las contracciones inducidas por bario de la tráquea del cobayo. Dos compuestos recientemente aislados no mostraron actividad antiespasmódica: luteolina-30,7-diglucurónido y b-hidroxi-acteósido (118).

2.2.9.1.6.8. Actividad antiulcerosa

En 2011, Melese et al., evaluaron el efecto del extracto de *P. lanceolata* sobre la secreción gástrica y la citoprotección utilizando diferentes modelos de úlcera gástrica, incluyendo úlcera gástrica crónica inducida por ácido acético, úlcera gástrica inducida por indometacina, úlcera duodenal inducida por cisteína. El extracto acuoso se administró a 200 mg / kg y 400 mg / kg y 140 mg / kg y 280 mg / kg para ratones y ratas, respectivamente, y comparado con el vehículo o el estándar, ranitidina (50 o 70 mg / kg) o Misoprostol (280 \mu g / kg). Además, la actividad del mucílago (172 mg / kg) también se evaluó en úlcera

gástrica crónica inducida por ácido acético. La administración se realizó oralmente excepto en la ligadura de píloro, donde se usó la vía intraduodenal. En todos los casos, las dosis más altas del extracto proporcionaron una mejor protección, indicando un efecto dosis-dependiente (119).

2.2.9.1.6.9. Actividad cicatrizante

En el 2012, Reza Farahpour et al., realizaron un estudio para evaluar los efectos de la aplicación tópica del extracto de *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) sobre la cicatrización de heridas y la histología de la herida cicatrizada. Se realizó en ratas Wistar (190-210 g) a las que se les extirpó un área de herida uniforme de 7 mm de diámetro con punzón circular desde la nuca del cuello dorsal de todas las ratas. Los grupos de animales se trataron tópicamente con 0,75 y 1,5% de *P. lanceolata* y dos controles. Macroscópicamente, la herida cubierta con el extracto de *P. lanceolata* sanó significativamente más rápido que los tratados con el placebo y los grupos de control (120).

2.2.9.1.6.10. Actividad antibacteriana

En el mismo año, Al Jumaily et al., extrajeron y purificaron taninos por TLC y HPLC de *P. lanceolata* y a una concentración de 150 mg / mL mostraron actividad antibacteriana *in vitro* e *in vivo* sobre *E. coli* (121).

En 2016, Ferrazzano et al., investigaron los efectos antimicrobianos *in vitro* e *in vivo* del té de *Plantago lanceolata* (de flores y hojas) sobre bacterias cariogénicas e identificar sus principales constituyentes. Mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (MBC) contra las bacterias cariogénicas. Posteriormente, se realizó un estudio clínico aleatorio controlado. El grupo A fue instruido para utilizar un enjuague bucal de *P. lanceolata*, y el grupo B recibió un enjuague bucal placebo durante siete días. Se analizó la colonización salivar por estreptococos y lactobacilos antes y en el cuarto y séptimo día del tratamiento. Finalmente, se analizó el contenido polifenólico y fenólico del té de *P. Lanceolata*. El té de *P.*

lanceolata mostró buena actividad antimicrobiana *in vitro*. La prueba *in vivo* mostró que los sujetos del grupo A presentaron una disminución significativa en los estreptococos en comparación con el grupo B. El análisis fitoquímico reveló que flavonoides, cumarinas, lípidos, ácidos cinámicos, lignanos y compuestos fenólicos están presentes en las infusiones de *P. lanceolata*. El extracto de *P. lanceolata* podría representar un agente anticariógeno natural a través de un efecto antimicrobiano y podría ser útil como medida auxiliar para controlar la proliferación de la flora cariogénica (95).

2.2.9.1.6.11. Actividad antiobesidad

En el 2013, Yoshida et al., administraron las hojas secas y molidas finamente de *P. lanceolata* a ratones C57BL / 6 J machos de cinco semanas de edad junto con dieta rica en grasas, por 28 días y durante este periodo se pesaron a los animales cada 7 días. Al término de este tiempo se analizaron los sueros y se pesó la grasa corporal. Esto sugiere que la dieta con *P. lanceolata* ejerce efectos antiobesidad estimulando el metabolismo a través de la grasa visceral, activando la lipólisis, acelerando la oxidación y supresión de los ácidos grasos (122).

2.2.10. Acteósido

El acteósido (**22**) ACT (**Figura 30**), es un feniletanoide, derivado hidrosoluble de los fenilpropanoides. Estos compuestos se caracterizan por una fracción hidroxifeniletíl vinculado a una β -glucopiranososa (galactosa, ramnosa o xilosa) a través de un enlace glucosídico (123). Estudios farmacológicos demuestran que ACT posee actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, anticarcinógena (citotóxico), antioxidante, neuroprotectora, hepatoprotectora e inmunomoduladora (modula la producción de óxido nítrico) (124–128). En 2016, Martínez-Meza et al., determinaron la DL_{50} del acteósido por el método de Lorke en ratas Wistar y concluyeron que es superior a 5000 mg / kg (129).

Es un componente considerado de polaridad media por lo que estará mayormente presente en la fracción acuosa y la de acetato de etilo y muy poco en la clorofórmica. Además se sabe que el ácido (22) modula la producción de óxido nítrico (128).

2.3 Marco Teórico

El dolor es un problema de salud pública ya que es universal, costoso, es el síntoma más frecuente de diversas patologías y en muchas ocasiones aunque no sea intenso o grave, el hecho de estar presente, incapacita a la persona en su vida productiva. Por esto el alivio o tratamiento del dolor nos permite aumentar la calidad de vida en las personas con patologías leves a graves y evitar las alteraciones orgánicas y psicológicas presentes en la situación dolorosa.

Existen muchos tipos de analgésicos que a pesar de ser económicos y muchas veces accesibles, todos coinciden en ocasionar reacciones adversas frecuentes y graves que se presentan con el uso crónico y dependientes de la dosis. Actualmente existen muchas organizaciones nacionales e internacionales que apoyan la investigación en el tema del dolor como la IASP, OMS, EFIC, AMETD etc. Entre éstas, la OMS promueve el tratamiento paliativo como parte fundamental de estas enfermedades dolorosas de tipo crónico, ya que el número de pacientes con estas enfermedades va en aumento.

Mediante la algilogía se buscan métodos que permitan medir el dolor, ya sea en humanos (en cuanto a la subjetividad del tema) y en animales (mediante los modelos establecidos) para establecer mecanismos fisiopatológicos y su tratamiento.

El uso de especies vegetales para curar nuestros padecimientos es muy antiguo y barato y además vigente ya que sigue utilizándose solo que aún hace falta avalar de manera científica el conocimiento sobre plantas medicinales.

La especie *Leucophyllum frutescens* que pertenece a las *Scrophulariaceae* y es conocida como “cenizo”, es utilizada en nuestro estado para aliviar el dolor de garganta y del dolor reumático. Se ha validado su actividad antifúngica contra *Histoplasma capsulatum*, su actividad hepatoprotectora ante tetracloruro de carbono y su actividad antituberculosa, su actividad antituberculosa en la fracción que contenía leubethanol, del cual se ha realizado la síntesis total y su confirmación estructural. Del leubetanol se ha evaluado su actividad antibacteriana.

La especie *Plantago lanceolata* perteneciente a la familia de las *Plantaginaceae* es conocida como “llantén menor”, es utilizada en nuestro estado para el alivio del dolor. Actualmente cuenta con diversos estudios que describen sus componentes principales como: aucubina, catapol y asperulósido, mucílagos, pectinas, ácidos fenoles, derivados: ésteres cafeilquínicos (ácido clorogénico), acteósido (verbascósido o plantamajósido) y otros componentes: taninos, cumarinas, flavonoides y sales minerales (zinc y potasio). Se le ha evaluado su actividad astringente, antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, uterotónica, genotóxica, hepatoprotectora, alergénica, antioxidante, mitogénica, antihelmíntica, nematotóxica, antiespasmódica, antiulcerosa, antiobesidad y antimicrobiana.

De acuerdo con lo antes descrito las especies *P. lanceolata* y *L. frutescens* no cuentan con estudio farmacológico que avale su uso para el tratamiento del dolor.

En el presente trabajo se utilizaron dos modelos de dolor nociceptivo validados y aprobados por el Comité institucional de ética para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CIECUAL), para evaluar el efecto antinociceptivo de *P. lanceolata* y *L. frutescens*. El dolor agudo en animales, se valoró mediante la observación de la respuesta clara y bajo la normatividad ética vigente.

El modelo Hot plate evalúa el dolor a nivel de sistema nervioso central, observando la conducta del animal de experimentación que es sometido a un estímulo térmico, midiendo el periodo de latencia. El modelo Writhing evalúa el dolor visceral (periférico) sometiendo al animal a un estímulo de tipo químico (administración intraperitoneal de ácido acético) y registrando el número de estiramientos de tipo cólico que presenta el animal en un periodo de tiempo.

III JUSTIFICACIÓN

El dolor es común en todos los humanos, es la principal causa para buscar asistencia médica pues la mayoría de las enfermedades se acompañan de éste. Es considerado un problema físico, psicológico y social que afecta el desarrollo, la productividad y calidad de vida del paciente y su tratamiento ineficaz tiene como consecuencia el sufrimiento.

Además, se sabe que los medicamentos para tratar el dolor son de gran consumo, se ha reportado que más de 30 millones de personas consumen a diario este tipo de medicamentos, sin embargo, éstos exhiben un patrón similar de efectos adversos, sobre todo con el uso prolongado, tales como úlcera gástrica, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, hipotensión, taquicardia, entre otras. Lo cual justifica la búsqueda de alternativas naturales que no tengan estas desventajas.

Los productos naturales son considerados históricamente como la fuente continua de fármacos o precursores de modificaciones semi-sintéticas. Actualmente el uso de la medicina tradicional y complementaria se considera una herramienta útil en el tratamiento de diferentes enfermedades. La investigación preclínica por medio de la experimentación farmacológica en animales ha permitido demostrar que los metabolitos secundarios de plantas medicinales cuentan con actividad farmacológica, por lo que es necesario realizar la evaluación de especies vegetales utilizadas para el tratamiento del dolor en la medicina tradicional y con esto tener un aval científico de su eficacia.

Leucophyllum frutescens y *Plantago lanceolata* son especies endémicas del Estado de Hidalgo y se utilizan en la medicina tradicional para el alivio del dolor, sin embargo, no existen evidencias científicas sobre su eficacia antinociceptiva y no hay estudios farmacológicos que demuestren su actividad analgésica.

Con el presente trabajo se contribuye en la generación de conocimiento sobre la actividad antinociceptiva de estas especies en el dolor nociceptivo (somático y visceral) y de esta manera avalar su uso etnobotánico.

IV HIPÓTESIS

H0: Las partes aéreas de las especies *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento del dolor, por lo que tendrán compuestos que presenten actividad antinociceptiva en modelos de dolor.

H1: Las partes aéreas de las especies *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* no tendrán compuestos que presenten actividad antinociceptiva en modelos de dolor.

V OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Evaluar el efecto farmacológico de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en diferentes modelos de dolor en ratones CD 1.

5.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de la especie *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en los modelos de dolor Writhing y Hot plate.
- Determinar el efecto antinociceptivo de las fracciones de la especie *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en los modelos de dolor Writhing y Hot plate.
- Determinar el efecto antinociceptivo del compuesto mayoritario de la especie *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en los modelos de dolor Writhing y Hot plate.

VI MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

Tipo de estudio experimental.

6.2 Tipo de diseño

El presente trabajo de investigación es cuantitativo, explicativo y transversal.

Para cubrir con los objetivos específicos se realizó el siguiente diseño experimental (**Figura 31**):

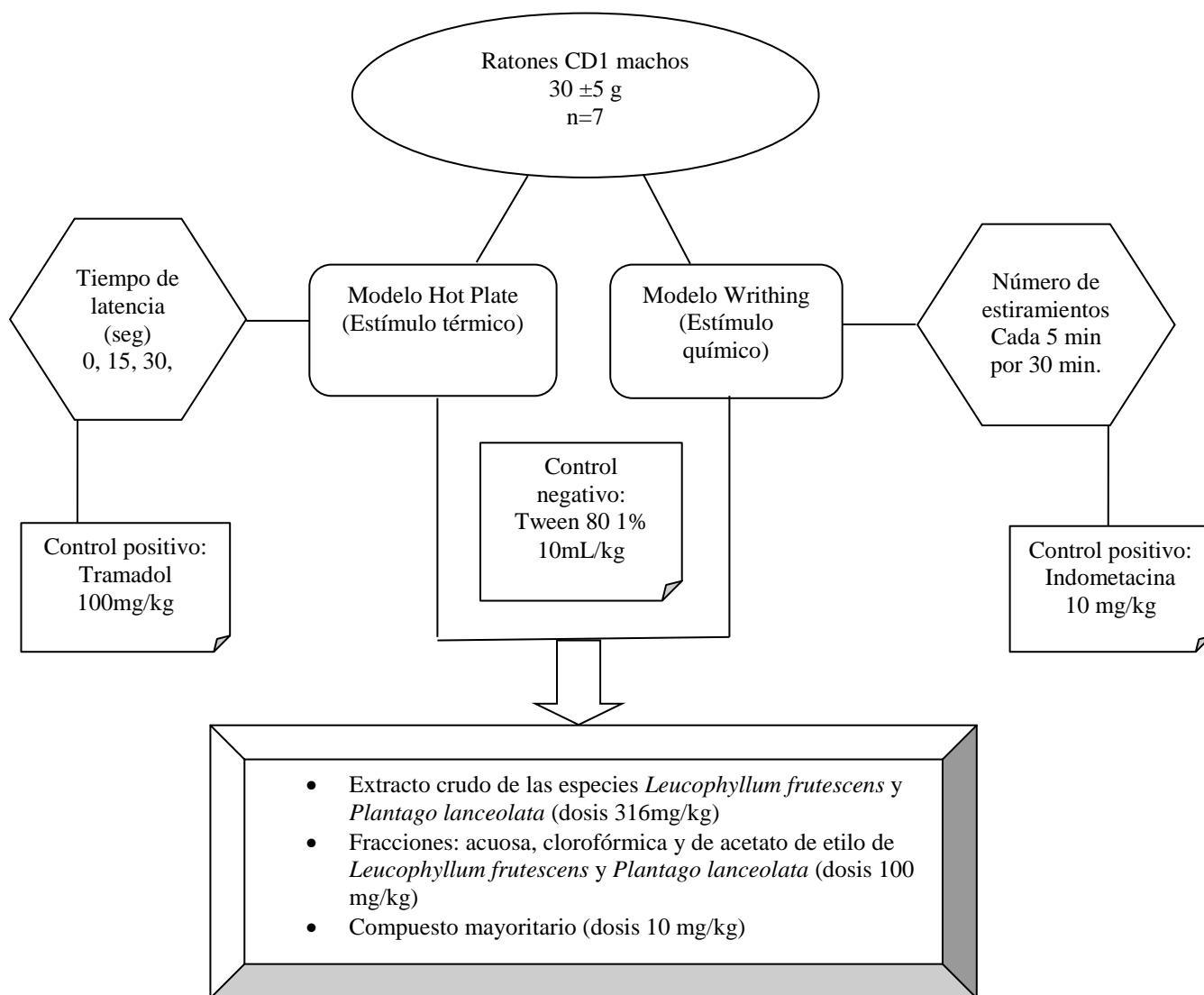


Figura 31. Diseño general del estudio

En la figura 31 se observa el diseño general del estudio, se utilizaron ratones de la cepa CD1, machos, adultos jóvenes, 30-35 g (n=7). Se emplearon dos modelos de evaluación de dolor nociceptivo: Hot Plate para dolor somático y Writhing para dolor de tipo visceral mediante un estímulo térmico y químico, respectivamente. En el Hot Plate, se utilizó como control positivo al tramadol y en el modelo Writhing la indometacina, en ambos el control negativo fue el vehículo: Tween 80 al 1%, en el cual se disolvieron los extractos y sus fracciones. La evaluación se interpretó mediante el conteo del número de estiramientos para el modelo Writhing y la medición del periodo de latencia en segundos para el modelo Hot Plate.

6.3. Material vegetal

Se utilizaron el extracto etanólico, la fracción acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata*, los cuales fueron preparados y proporcionados por la Dra. Claudia Velázquez González, Profesora e Investigadora del Área Académica de Farmacia de la UAEH. Estas especies vegetales fueron identificadas por el M. en C. Manuel González Ledesma, Profesor e Investigador del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH. Los números de voucher son DVM01 para *L. frutescens* y CVG01 para *P. lanceolata*. El estudio bio-dirigido llevó al aislamiento de Acteósido (ACT) considerado compuesto mayoritario en las dos especies, el cual también fue evaluado.

6.4. Animales de experimentación

En este trabajo se utilizaron ratones de la cepa CD-1, machos, con un peso 30-35 g. Dichos ratones fueron producidos en el Bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, permanecieron en condiciones estándar de ciclo luz/oscuridad de 12 horas, a una temperatura de 22 °C y un control de humedad relativa del 45%, con alimento y agua *ad libitum*. Los ratones se dejaron en privación de alimento por 12 horas previos al experimento. El empleo de éstos se realizó siguiendo los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999, la cual menciona las especificaciones técnicas

para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio de la Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. También bajo los lineamientos establecidos en las Guías éticas para la investigación de dolor experimental en animales conscientes de la IASP. El número de animales utilizados se llevó al mínimo y al término de los experimentos fueron sacrificados usando la cámara de eutanasia mediante la administración inhalatoria de dióxido de carbono (n=7) (64).

6.4. Técnicas de evaluación antinociceptiva

A continuación se describen los dos modelos de dolor nociceptivo que se utilizaron para realizar la evaluación antinociceptiva de los extractos, las fracciones y el compuesto mayoritario de las dos especies: el método de “Hot plate” (placa caliente) y el de “Writhing” (contorsión o estiramiento).

6.4.1. Modelo Hot plate

6.4.1.1. Fundamento del modelo Hot plate

El modelo Hot plate (placa caliente), fue descrito por Woolfe y McDonald en 1944 para describir el proceso de respuesta nociceptiva (comportamiento de retirada), ante estímulo nocivo térmico en las patas de un roedor (44,46).

Este modelo, se emplea para evaluar el efecto analgésico, basándose en la medición de la respuesta del animal al estímulo térmico que está ligado al reflejo supraespinhal. Se tiene un periodo de corte a los 20 segundos para evitar algún daño en la pata del animal de experimentación (46,130).

La prueba consiste en observar la conducta del animal durante el estímulo térmico y se considera la respuesta cuando éste se lame o sacude las patas (delanteras o traseras), muestra el síndrome de “retirada” o salta. Se registra dicha respuesta a los 0, 15, 30, 60, 90

y 120 minutos después del tratamiento. Este modelo tiene la ventaja de no restringir al animal (46,131).

Se calculó la actividad antinociceptiva como el efecto máximo posible (EMP) como porcentaje usando la siguiente fórmula (132):

$$\text{EMP (\%)} = \frac{(\text{Latencia post-fármaco}) - (\text{Latencia del vehículo})}{(\text{Tiempo de corte}) - (\text{Latencia del vehículo})} * 100$$

Evalúa fármacos que actúan centralmente como los opioides, por lo que se utiliza principalmente morfina como fármaco de referencia. En este trabajo se utilizó tramadol como control positivo, que actúa por dos mecanismos: como agonista de los receptores opiáceos μ (μ) e inhibiendo la recaptación de serotonina y noradrenalina a nivel espinal, modulando las vías descendentes del dolor (65,67). El tramadol, al ser un fármaco de naturaleza opioide mimetiza los efectos de los neurotransmisores endógenos (endorfinas y encefalinas) modulando la transmisión de la señal del dolor que se recibe. Activa el receptor μ acoplado a proteína G_i situado en las neuronas presinápticas y postsinápticas a lo largo de la transmisión del dolor, aumentando el flujo de salida de K^+ , hiperpolariza a las neuronas y reduce su sensibilidad a estímulos dolorosos y la inhibición de la entrada de Ca^+ , disminuyendo la liberación de neurotransmisores en las neuronas de la vía de transmisión del dolor (61). La activación del receptor μ además de desarrollar analgesia, también genera depresión respiratoria, miosis, reducción de la motilidad gastrointestinal y sensación de bienestar y placer (euforia) (133).

El estímulo térmico activa las fibras sensoriales ($A\delta$ y C) de alto umbral que inervan la piel. Estos axones transducen temperaturas mayores de 45 °C, que producen comportamiento de escape cuando se aplican a la piel, con la frecuencia de descarga proporcional a la intensidad del estímulo al que está expuesta. Con base en un enfoque electro-fisiológico *in vivo*, se ha propuesto que el incremento de la temperatura activa las fibras C mientras que el calentamiento rápido activa las fibras $A\delta$ (21). Este tipo de tráfico aferente activa las neuronas del asta dorsal hasta los sitios supraspinales donde sirven para activar neuronas en

la médula, mesencéfalo y tálamo (134). Lo anterior explica la respuesta de los ratones cuando son expuestos en la superficie caliente en el modelo Hot plate, mostrando la conducta de retiro de las extremidades por el estímulo térmico.

6.3.1.4. Procedimiento del modelo Hot plate

Los ratones se mantienen en un cuarto de aislamiento con un ciclo luz-oscuridad de 12 h, temperatura de 22°C, humedad relativa del 45% y agua y alimento *ad libitum*; para su adaptación por un periodo de 7 días, en el séptimo día por la noche se dejan en ayuno de alimento por 12 horas (previo a iniciar el experimento).

Se preparan las soluciones a utilizar (vehículo, control positivo, extractos a evaluar). Los ratones se pesan y marcan para evitar errores de tratamiento.

Se enciende el Hot/Cold Plate y se le programa para que caliente a temperatura de 50 ± 1 °C.

Los ratones colocados de manera individual sobre la placa caliente con la temperatura ajustada (50 ± 1 °C) y se activa el cronómetro del equipo (botón de inicio). Se registra el tiempo transcurrido hasta el primer signo de nocicepción, sacudida o lamida de la pata, retroceso o salto para evitar el calor, se detiene el cronómetro y retira inmediatamente el animal de la placa caliente.

Este procedimiento se repite con cada uno de los ratones, para registrar el periodo de latencia de retiro basal. Luego son administrados con cada tratamiento según el grupo al que pertenece, esto corresponde al tiempo cero. Pasados 15 minutos después de la administración se somete de manera individual a cada ratón al estímulo térmico y se registra el periodo de latencia de retiro. Esto se repite a diferentes tiempos: 30, 60, 90 y 120 minutos (**Figura 32**).

Se mantiene un periodo de corte de 20 segundos para evitar provocar daño en las patas del ratón. El tiempo medido (en segundos) se utiliza como variable dependiente del efecto (46).

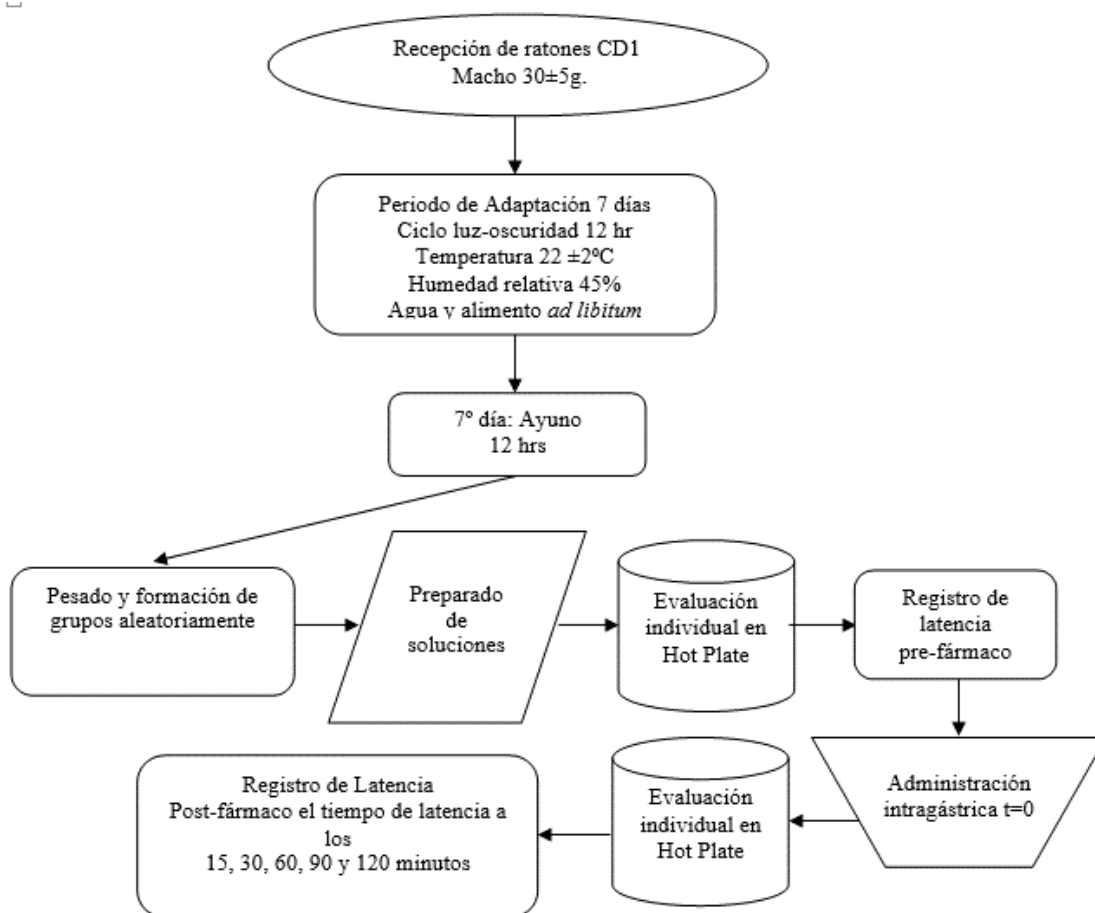


Figura 32. Procedimiento del modelo Hot Plate (46).

6.4.2. *Modelo Writhing*

6.4.2.1. *Fundamento del modelo Writhing*

El modelo Writhing, (contorsión, estiramiento o retorcimiento), fue desarrollado en los años 50's por Carroll y Lim en 1958, Koster y sus colaboradores en 1959, Siegmund y otros en 1957 y Vander Wende y Margolin en 1956. Tiene como fundamento el estimar el efecto antinociceptivo periférico en el dolor de tipo visceral, inducido químicamente (49).

La prueba consiste en la inyección intraperitoneal de un irritante químico (ácido acético 0.6 %), seguido por el recuento de las “contorsiones o estiramientos” en un periodo de tiempo (30 minutos), este estiramiento es la contracción característica de los músculos abdominales y va acompañada por un movimiento extensor de las extremidades posteriores (49).

Es decir, el animal de experimentación muestra contracciones del estómago, alargamiento del cuerpo. La actividad antinociceptiva se calcula como el porcentaje de inhibición de la contorsión abdominal. Este modelo se ha utilizado como una herramienta de cribado para evaluar la actividad antinociceptiva central y periférica (131).

La metodología ha variado con el uso de endotelina, bradiquinina, adenosina 5'-trifosfato, acetilcolina, sulfato de magnesio, solución salina hipertónica, y radio-contraste iodado como irritantes intraperitoneales; sin embargo, los agentes más comúnmente empleados para la prueba de Writhing (estiramiento o contorsión), han sido fenilquinona y ácido acético (49).

Este modelo se lleva a cabo típicamente en roedores no anestesiados usando una inyección intraperitoneal de una dosis fija (1 mL / kg de ratón) de ácido acético diluido (0,6 a 0.9% v/v) o fenilquinona (0,1 a 0,3%). Las respuestas se han cuantificado como respuestas de todo o nada, pero más comúnmente el número de contorsiones o estiramientos se cuenta en intervalos de 5 min durante 30 a 60 min (49).

La actividad antinociceptiva se calculó como el porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por cualquier tratamiento en los grupos mediante la fórmula siguiente (131):

$$(C-T / C) \times 100$$

Donde:

C= Número de contracciones abdominales en el grupo tratado con vehículo (135).

T= Número de contracciones abdominales en el grupo a evaluar (135).

Este modelo se caracteriza por tener alta sensibilidad a fármacos sedantes, relajantes musculares y antiinflamatorios no esteroideos (50). Por esta razón se utilizó indometacina como control positivo, el cual actúa inhibiendo la actividad de la enzima ciclooxigenasa (COX1 y COX2) que bloquea la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico en tejidos periféricos. A nivel central impide la sensibilización de las neuronas medulares y supramedulares, permitiendo la modulación (inhibición) central del dolor, por lo que reduce marcadamente el componente analgésico e inflamatorio (60).

6.4.2.4. Procedimiento para el modelo *Writhing*

Los ratones se mantienen en un cuarto de aislamiento con un ciclo luz-oscuridad de 12 hr., temperatura de 22 °C, humedad relativa del 45% y agua y alimento *ad libitum*, (**Figura 33**); para su adaptación por un periodo de 7 días, en el séptimo día por la noche se dejan en ayuno de alimento por 12 horas (previo a iniciar el experimento).

Se preparan las soluciones a utilizar (vehículo, control positivo, extractos a evaluar). Los ratones se pesan y marcan para evitar errores de tratamiento. Se administra el tratamiento a evaluar y pasados 30 minutos, se aplica el estímulo de tipo químico mediante la inyección intraperitoneal de ácido acético al 0.6% V/V para inducir el dolor (49).

Se colocan los ratones de manera individual en las cajas de vidrio, se observan y contabiliza el número de estiramientos abdominales durante 30 minutos (49).

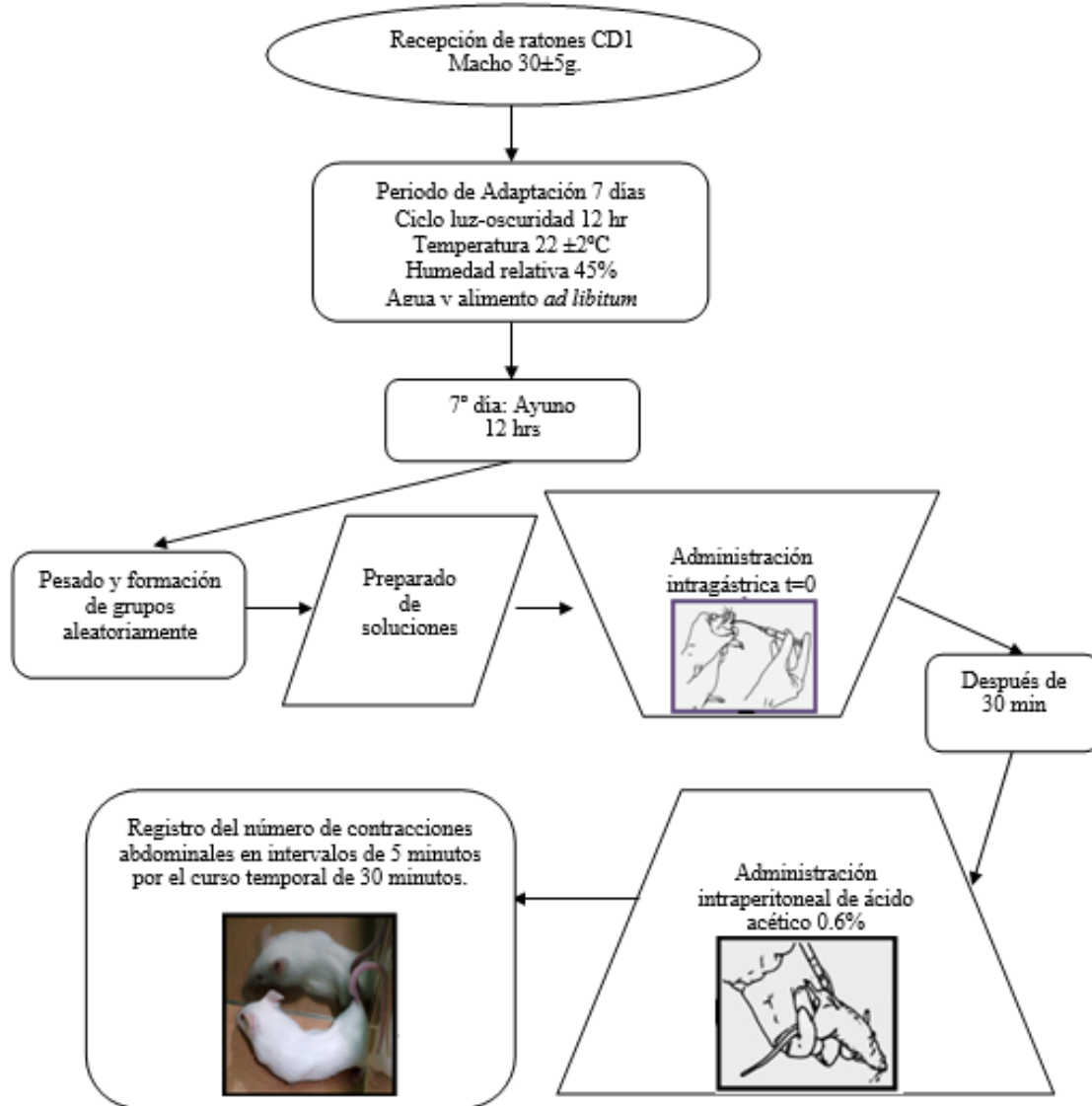


Figura 33. Procedimiento del modelo Writhing ⁽⁴⁹⁾

6.5 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante el paquete estadístico GraphPad Prism 5. Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza: ANOVA, seguido de un análisis de comparación con la prueba de Tukey. Los resultados se expresan como la media \pm el error estándar (EE) de n=7 animales por grupo. El área bajo la curva

(ABC) representa el efecto antinociceptivo neto, se calculó por el método de los mínimos cuadrados y un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

VII RESULTADOS

7.1 Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Hot plate.

En el modelo Hot plate se mide el periodo de latencia (seg), es decir el tiempo que el animal de experimentación tarda en mostrar la conducta nociceptiva, las sustancias que lo aumentan son consideradas analgésicas (47,48). La evaluación antinociceptiva en los ratones CD1 se realizó a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos tomados a partir de la administración intragástrica de los extractos etanólicos de las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata*.

En la figura 34 se observa el curso temporal del efecto antinociceptivo después de la administración intragástrica del extracto etanólico a una dosis de 316mg / kg, de cada una de las especies evaluadas comparadas con el vehículo y el fármaco de referencia. Las curvas representan la media \pm EE de la latencia de retiro en segundos de cada tratamiento (n=7).

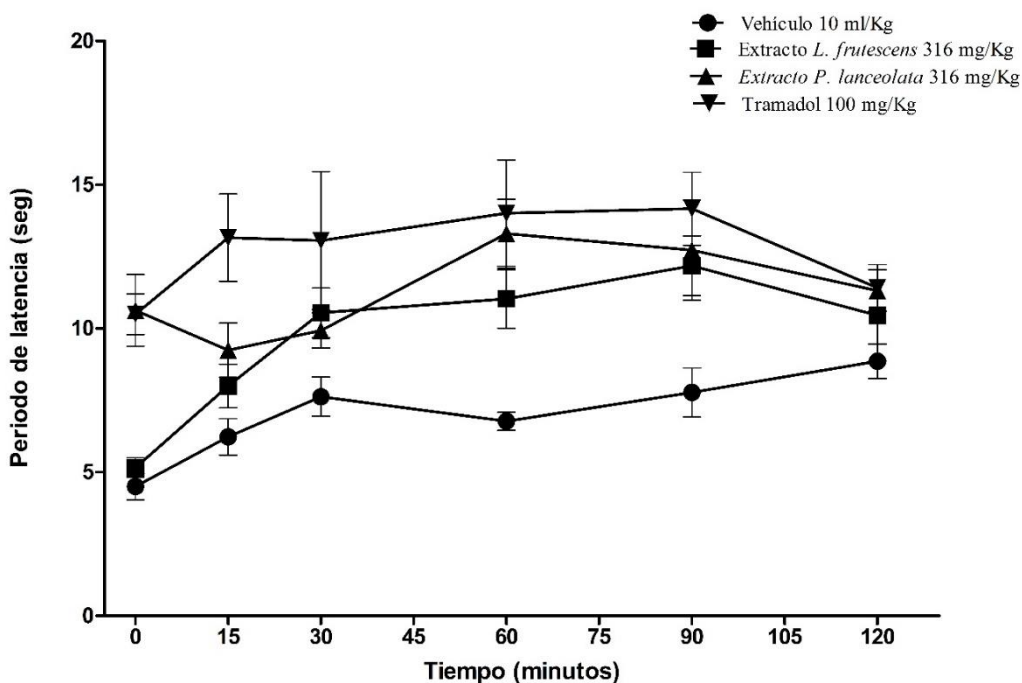


Figura 34. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *L. frutescens* y *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica del extracto etanólico de *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, comparado con el vehículo (Tween 80 1%) y con Tramadol en el modelo Hot plate en ratones CD1. Los resultados se expresan en promedio \pm EE del periodo de latencia de 7 ratones.

En la siguiente figura se representa el efecto antinociceptivo en área bajo la curva (ABC), contra el tratamiento. Los extractos etanólicos de las dos especies fueron administrados a una dosis de 316mg / kg en el modelo Hot plate en los ratones CD1. Destacando que los dos extractos etanólicos muestran actividad antinociceptiva y una diferencia significativa contra el vehículo. El extracto de *L. frutescens* muestra diferencia significativa contra el Tramadol. El extracto etanólico de la especie *P. lanceolata* muestra un efecto máximo posible (EMP) de 32.43% y *L. frutescens* del 19.9%. Este resultado indica que dichos extractos tienen actividad antinociceptiva. Las barras indican la media \pm EE, n=7. *p<0.05 y ***p <0.001 Vs Veh, + p<0.05 Vs Tramadol ANOVA de una vía, seguida de prueba de comparación múltiple de Tukey.

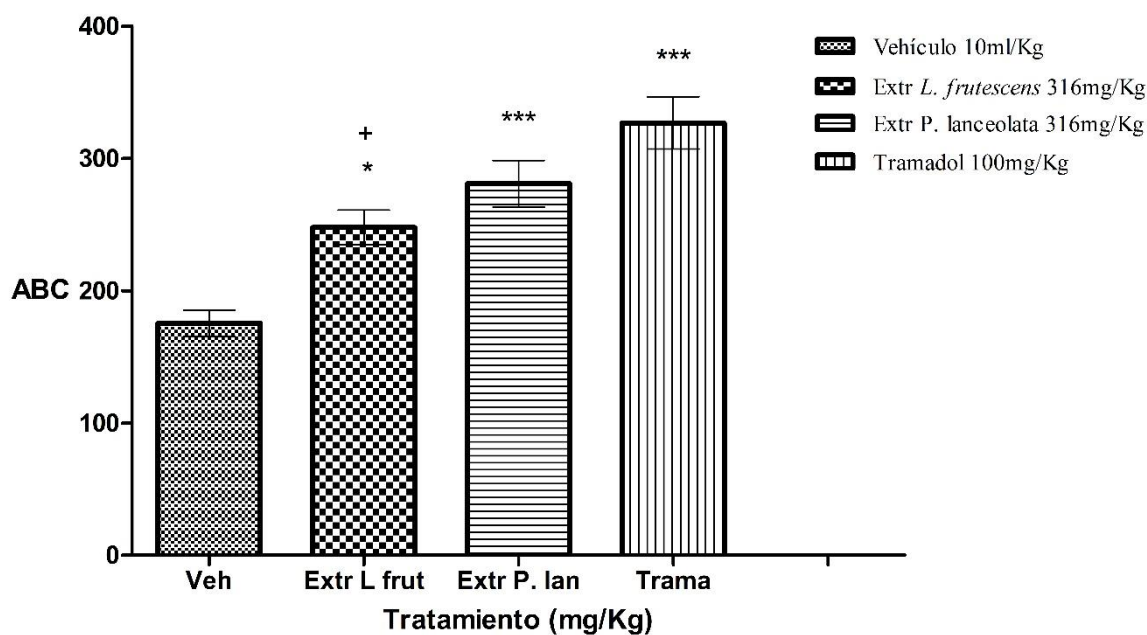


Figura 35. ABC del extracto etanólico de *L. frutescens* y *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de los extractos etanólicos de *L. frutescens* y *P. lanceolata*, en el modelo de dolor Hot plate comparado con el vehículo

(Tween 80 al 1%) y tramadol. Las barras indican la media \pm EE, n=7. *p<0.05 y ***p <0.001 Vs Veh, + p<0.05 Vs Tramadol, ANOVA de una vía, seguida de Tukey.

El efecto antinociceptivo para cada tratamiento fue calculado como porcentaje y se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Efecto antinociceptivo de los extractos etanólicos de *L. frutescens* y *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1

Tratamiento	Periodo de latencia (seg) \pmEE	% Efecto máximo posible (EMP)
Vehículo	6.96 \pm 0.31	0
Extracto etanólico <i>L. frutescens</i>	9.56 \pm 0.52	19.9
Extracto etanólico <i>P. lanceolata</i>	11.19 \pm 0.49	32.43
Tramadol	12.72 \pm 0.62	44.1

7.2 Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Writhing.

En el modelo Writhing se evalúa el efecto analgésico mediante el recuento de los estiramientos, la sustancia tendrá efecto antinociceptivo mientras menos contorsiones o estiramientos presente en el curso temporal de 30 minutos (49,131). En la figura 36, se muestra el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* a dosis de 316mg / kg administrados por vía intragástrica a ratones CD1. Se observa una actividad antinociceptiva de los dos extractos, de 96.8% para *L. frutescens* y de 113.45% con *P. lanceolata* a la mostrada por Indometacina a dosis de 10mg / kg.

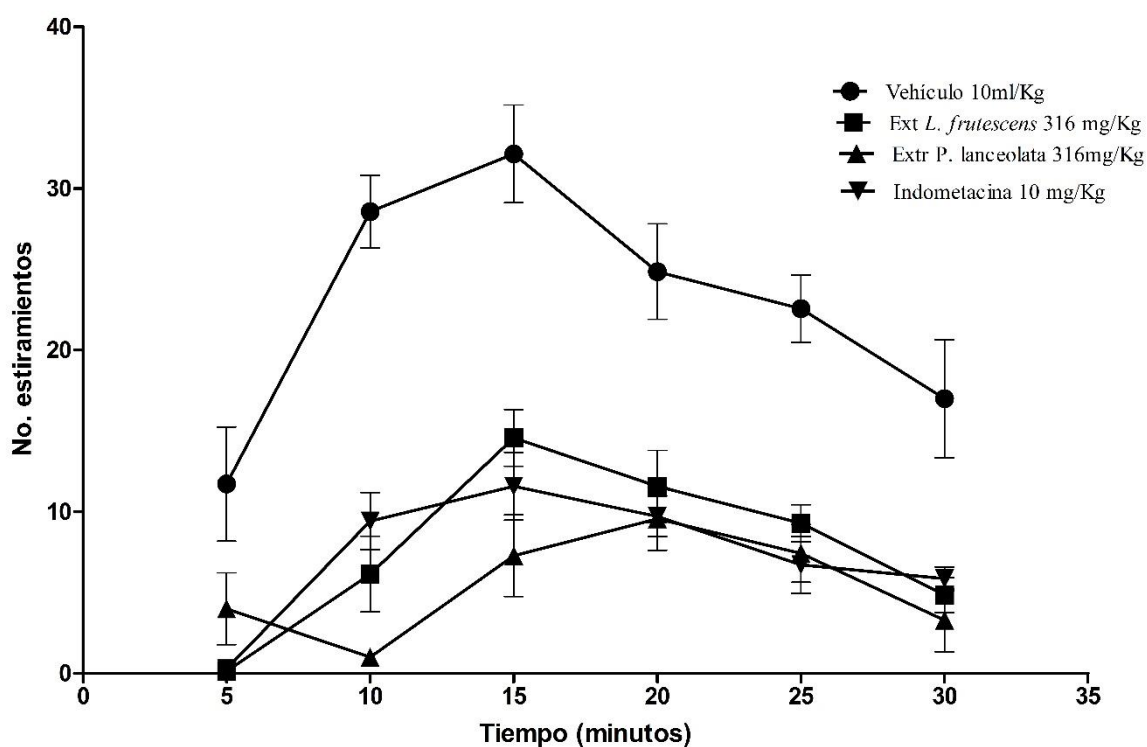


Figura 36. Efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *L. frutescens* y *P. lanceolata* en el modelo Writhing en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica del extracto etanólico de *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, comparado con el vehículo (Tween 80 1%) e Indometacina, tras la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6 %, en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media \pm EE, n=7.

En la siguiente figura se representa el efecto antinociceptivo en área bajo la curva contra el tratamiento con los extractos etanólicos de las dos especies evaluadas. Estos fueron administrados a una dosis de 316mg / kg en el modelo Writhing en ratones CD1. Los dos

extractos muestran diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001.

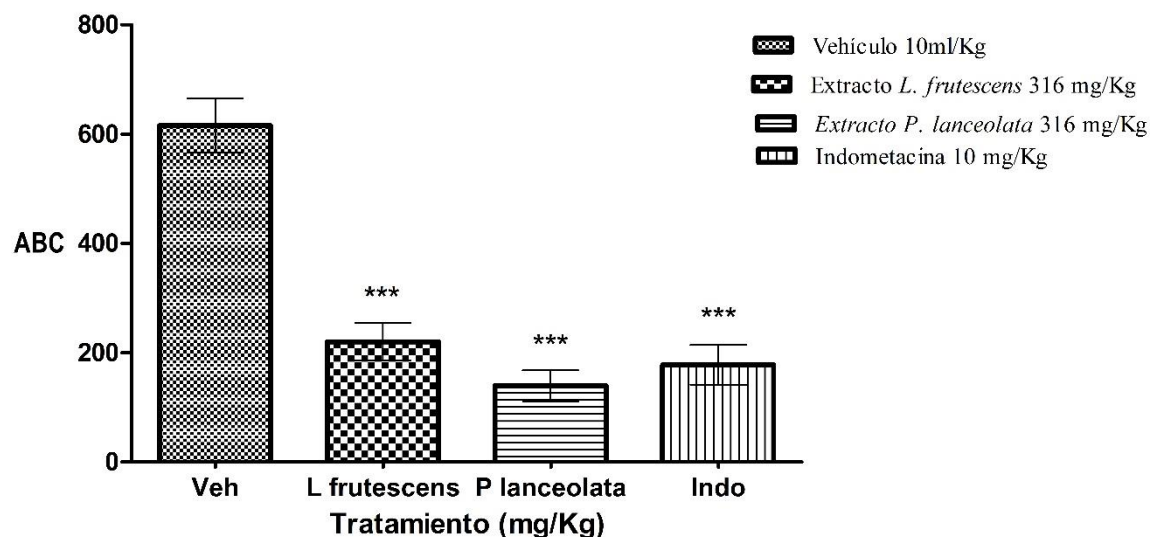


Figura 37. ABC del efecto antinociceptivo de los extracto de *L. frutescens* y *P. lanceolata* en modelo Writhing en ratones CDI.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de los extractos etanólicos de *L. frutescens* y *P. lanceolata*, en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el vehículo (Tween 80 al 1%) e indometacina. Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001 vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 10, se muestra el porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales producido por la administración intragástrica de los diferentes tratamientos: el vehículo (control negativo) a una dosis de 10mL / kg, los extractos etanólicos de las especies evaluadas en dosis de 316mg / kg y del control positivo que fue Indometacina en dosis de 10 mg / kg.

Tabla 10. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por los extractos de la especie *L. frutescens* y *P. lanceolata*, en dosis de 316 mg / kg en el modelo Writhing.

Tratamiento			Número de estiramientos ±EE	% de inhibición
Vehículo			966 ±1.63	0
Extracto	etanólico	<i>L.</i>	326 ±1.05	66.25
<i>frutescens</i>				
Extracto	etanólico	<i>P.</i>	216 ±0.91	77.64
<i>lanceolata</i>				
Indometacina			305 ±0.79	68.43

7.3. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *Leucophyllum frutescens* en el modelo de dolor Hot plate

En la figura 38 se observa el curso temporal del efecto antinociceptivo después de la administración intragástrica de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *L. frutescens* a una dosis de 100 mg / kg, de cada una de las especies evaluadas comparadas con el control negativo y el fármaco de referencia. La fracción acuosa de *L. frutescens* mostró un mayor periodo de latencia, es decir un efecto máximo posible (EMP) de 47.54%, la fracción de acetato un 40.41% y la de cloroformo del 43.86%. Las curvas representan la media \pm EE de la latencia de retiro en segundos de cada tratamiento (n=7).

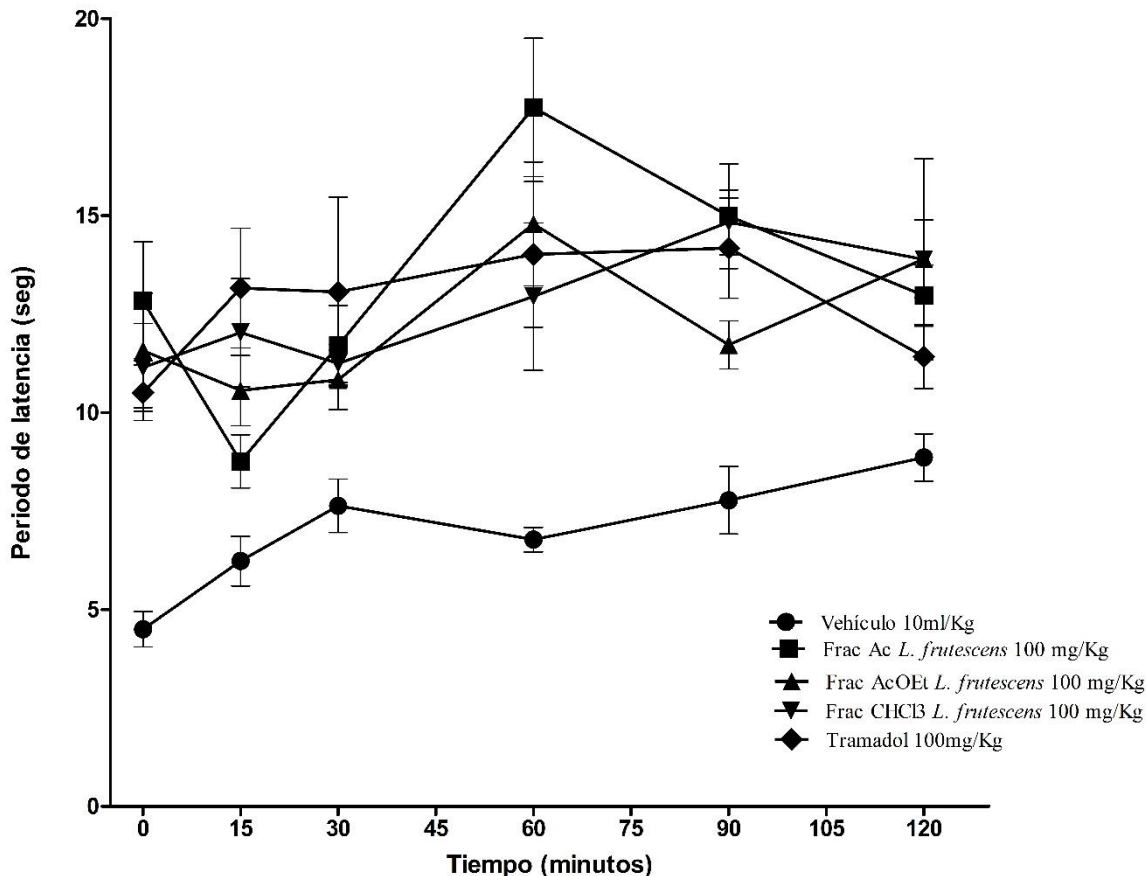


Figura 38. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *L. frutescens* en modelo Hot plate en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica de las fracciones acuosa (Ac), acetato de etilo (AcOEt) y clorofórmica (CHCl₃) de *L. frutescens*, comparado con el vehículo (Tween 80 1%) y Tramadol. Los resultados se expresan en promedio \pm EE del periodo de latencia (n=7).

En la figura 39 se representa el efecto antinociceptivo en ABC contra el tratamiento. Las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *L. frutescens* fueron administradas a una dosis de 100mg / kg en el modelo Hot plate en ratones CD1. Las tres fracciones de *L. frutescens* mostraron diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001 Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de comparación múltiple de Tukey.

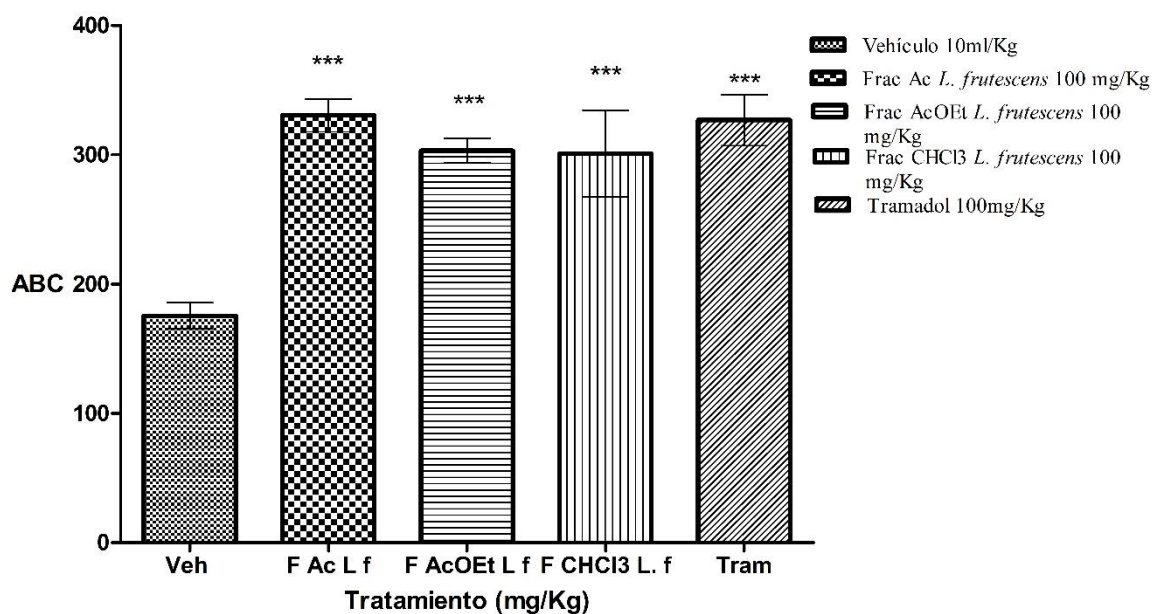


Figura 39. ABC de las fracciones de *L. frutescens* en modelo Hot plate en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de las fracciones de *L. frutescens*, en el modelo de dolor Hot plate comparado con el control vehículo (Tween 80 al 1%) y tramadol. Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.01 Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de Tukey.

El efecto antinociceptivo para cada tratamiento fue calculado como porcentaje y se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *L. frutescens* administradas en dosis de 100 mg / kg en modelo Hot plate en ratones CD1

Tratamiento	Periodo de latencia (seg) ±EE	% Efecto máximo posible (EMP)
Vehículo	6.96 ±0.31	0
Fracción acuosa de la especie <i>L. frutescens</i>	13.16 ±0.64	47.54
Fracción acetato de etilo de la especie <i>L. frutescens</i>	12.23 ±0.48	40.41
Fracción clorofórmica de la especie <i>L. frutescens</i>	12.68 ±0.62	43.86
Tramadol	12.72 ±0.62	44.1

7.4. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *Leucophyllum frutescens* en el modelo de dolor Writhing.

En la siguiente figura, se muestra el efecto antinociceptivo de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *L. frutescens* a dosis de 100mg / kg administrados por vía intragástrica a ratones CD1. Las tres fracciones administradas mostraron una actividad antinociceptiva del 84.8% para la acuosa, 84.3% para la de acetato de etilo y 86.3% para la clorofórmica en comparación con la Indometacina.

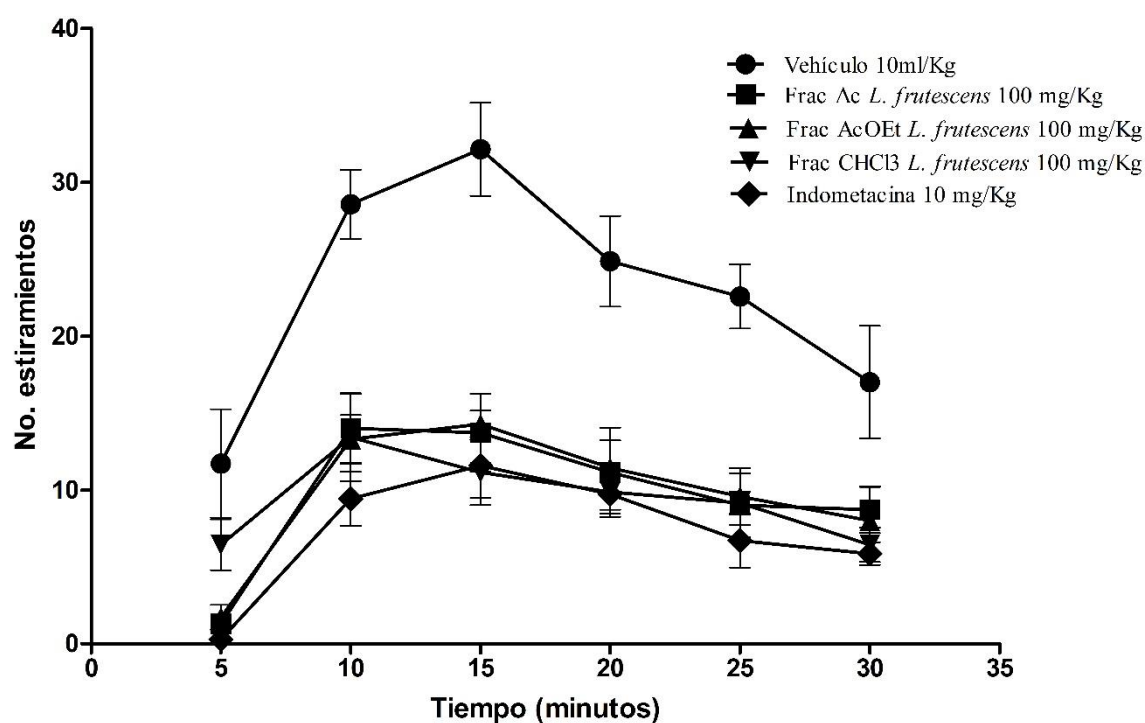


Figura 40. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *L. frutescens* en el modelo Writhing en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica del extracto de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *L. frutescens*, comparado con el vehículo (Tween 80 1%) e Indometacina, tras la administración de ácido acético al 0.6 %, en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media \pm EE, n=7.

En la figura 41 se muestra el efecto antinociceptivo en ABC contra el tratamiento de las fracciones de la especie *L. frutescens* administradas a una dosis de 100 mg / kg en el

modelo Writhing en ratones CD1. Las tres fracciones muestran diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001.

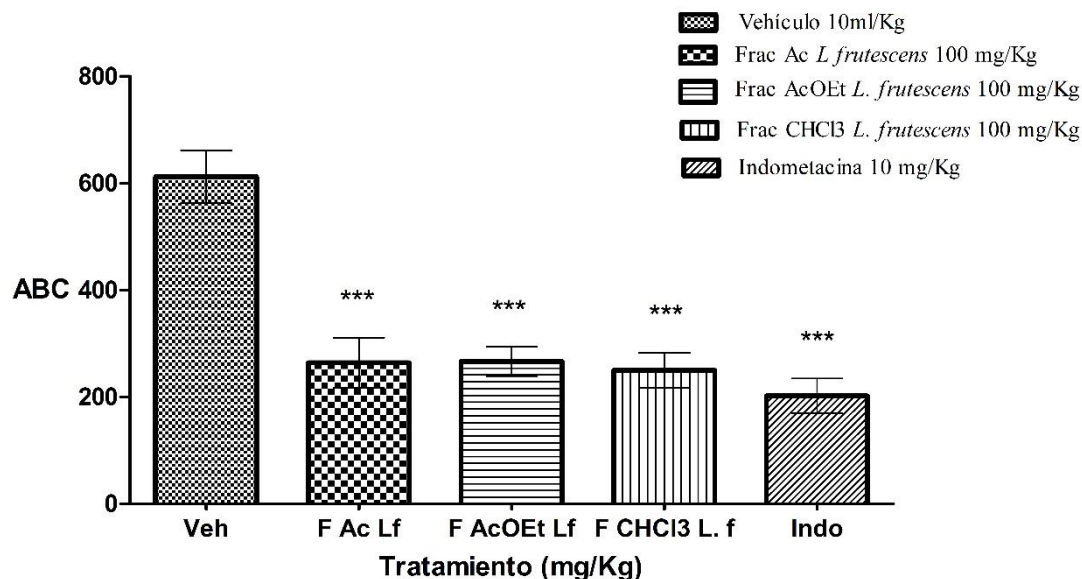


Figura 41. ABC del efecto antinociceptivo de las fracciones de *L. frutescens* en modelo Writhing en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *L. frutescens*, en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el grupo control vehículo (Tween 80 al 1%) e indometacina. Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001 Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 12 se expone la media del número de estiramientos observados con la administración de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *L. frutescens* y su porcentaje de inhibición.

Tabla 12. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *L. frutescens*, en dosis de 100 mg / kg en el modelo Writhing

Tratamiento	Número de estiramientos ±EE	% de inhibición
Vehículo	966 ±1.52	0
Fracción acuosa de la especie <i>L. frutescens</i>	405 ±1.04	58.08
Fracción acetato de etilo de la especie <i>L. frutescens</i>	408 ±0.89	57.77
Fracción clorofórmica de la especie <i>L. frutescens</i>	395 ±0.77	59.11
Indometacina	305 ±0.79	68.43

7.5. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Hot plate.

En la figura 42, se observa el curso temporal del efecto antinociceptivo después de la administración intragástrica de la fracción acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *P.lanceolata* por vía intragástrica, a una dosis de 100 mg / kg comparadas con el control negativo y el fármaco de referencia. Las fracciones acuosa y de acetato de etilo de la especie *P. lanceolata* mostraron un efecto máximo posible del 33.74% y 32.82% y la fracción clorofórmica de 23.31%. Las curvas representan la media \pm EE de la latencia de retiro en segundos de cada tratamiento (n=7).

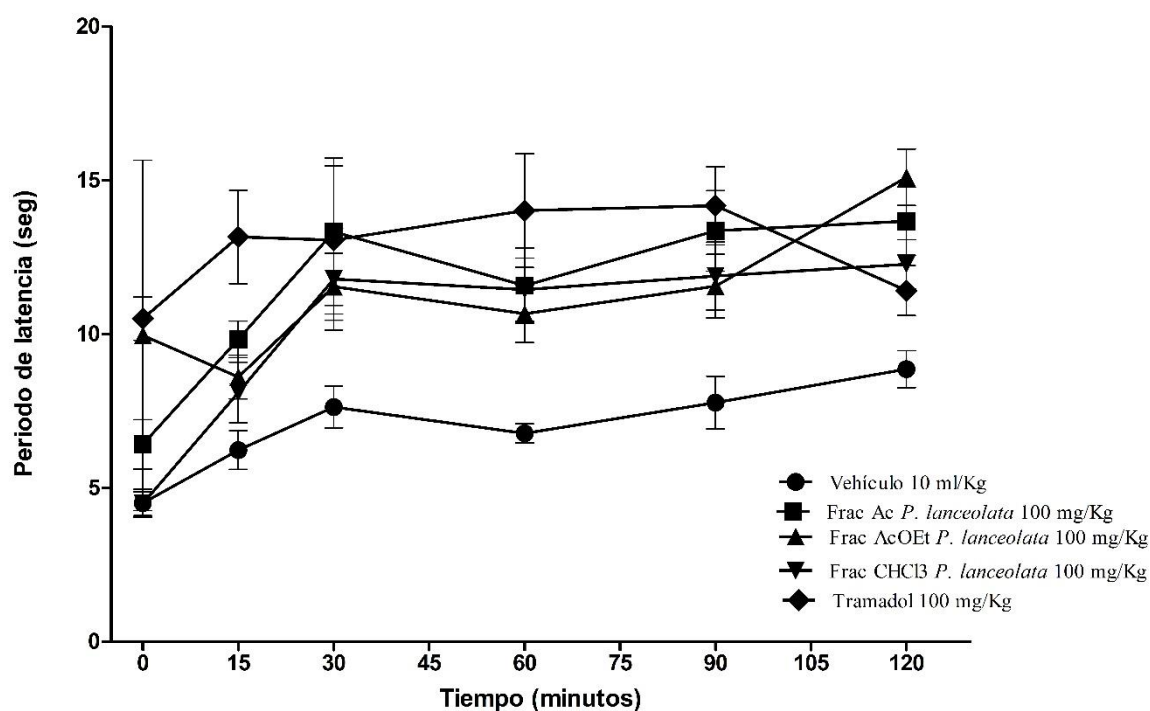


Figura 42. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *Plantago lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica de las fracciones acuosa (Ac), acetato de etilo (AcOEt) y clorofórmica (CHCl₃) de *Plantago lanceolata* comparado con el vehículo (Tween 80 1%) y Tramadol. Los resultados se expresan en promedio \pm EE del periodo de latencia (n=7).

En la figura 43 se observa el efecto antinociceptivo en ABC contra el tratamiento. Las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *P. lanceolata* fueron

administradas a una dosis de 100mg / kg en el modelo de Hot plate en ratones CD1. Las fracciones acuosa y de acetato de etilo, muestran diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE del periodo de latencia (n=7). * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de comparación múltiple de Tukey.

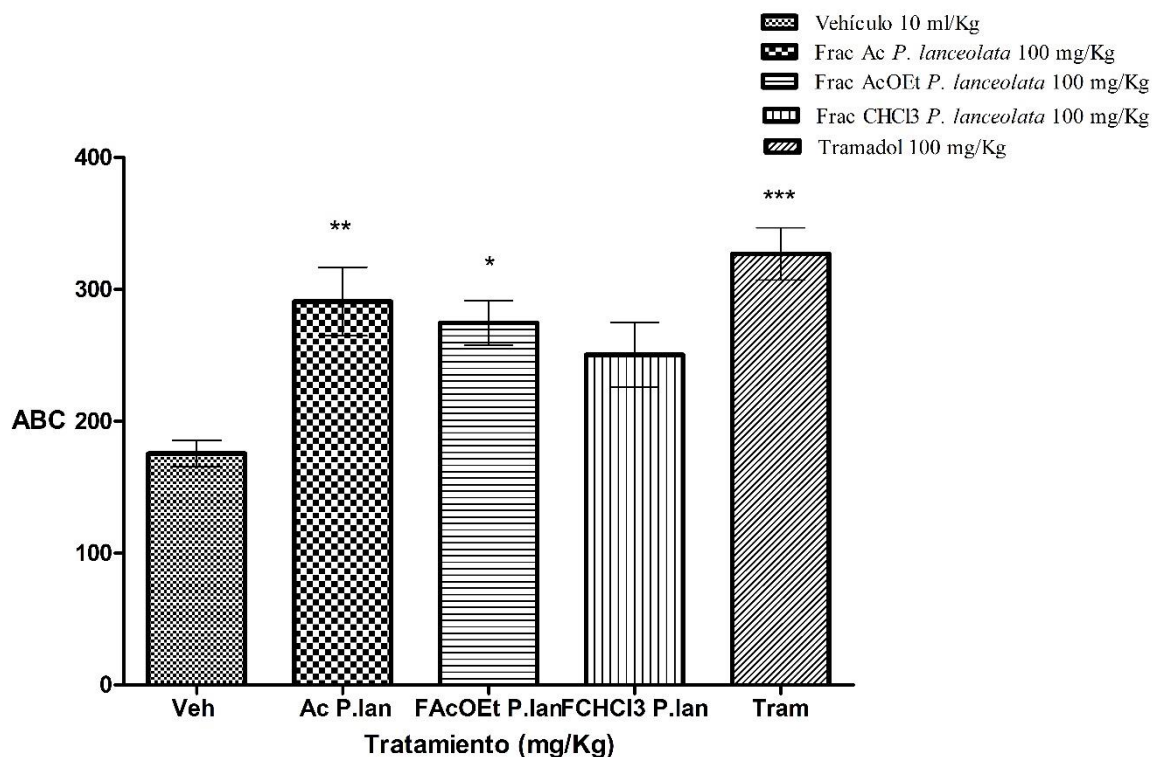


Figura 43. ABC de las fracciones de *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de las fracciones de *P. lanceolata*, en el modelo de dolor Hot plate comparado con el vehículo (Tween 80 al 1%) y tramadol. Las barras indican la media \pm EE, n=7. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y $p < 0.001$ Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 13 se observa el efecto antinociceptivo para cada tratamiento expresado en porcentaje para las fracciones de *P. lanceolata* (acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica), de los datos obtenidos en el modelo Hot plate administradas en dosis de 100mg / kg en ratones CD1.

Tabla 13. Efecto antinociceptivo en porcentaje del efecto máximo posible (EMP), de las fracciones de *P. lanceolata* administradas en dosis de 100 mg / kg en modelo Hot plate en ratones CD1

Tratamiento	Periodo de latencia (seg) ±EE	% Efecto máximo posible (EMP)
Vehículo	6.96 ±0.31	0
Fracción acuosa de la especie <i>P. lanceolata</i>	11.36 ±0.65	33.74
Fracción acetato de etilo de la especie <i>P. lanceolata</i>	11.24 ±0.99	32.82
Fracción clorofórmica de la especie <i>P. lanceolata</i>	10 ±0.60	23.31
Tramadol	12.72 ±0.62	44.1

7.6. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Writhing

En la figura 44, se muestra el efecto antinociceptivo de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *P. lanceolata* a dosis de 100mg / kg administrados por vía intragástrica a ratones CD1. Las tres fracciones administradas mostraron una actividad antinociceptiva en comparación con la Indometacina, la fracción acuosa del 87.4%, la de acetato de etilo del 64.9% y la de cloroformo del 37.6%. Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001.

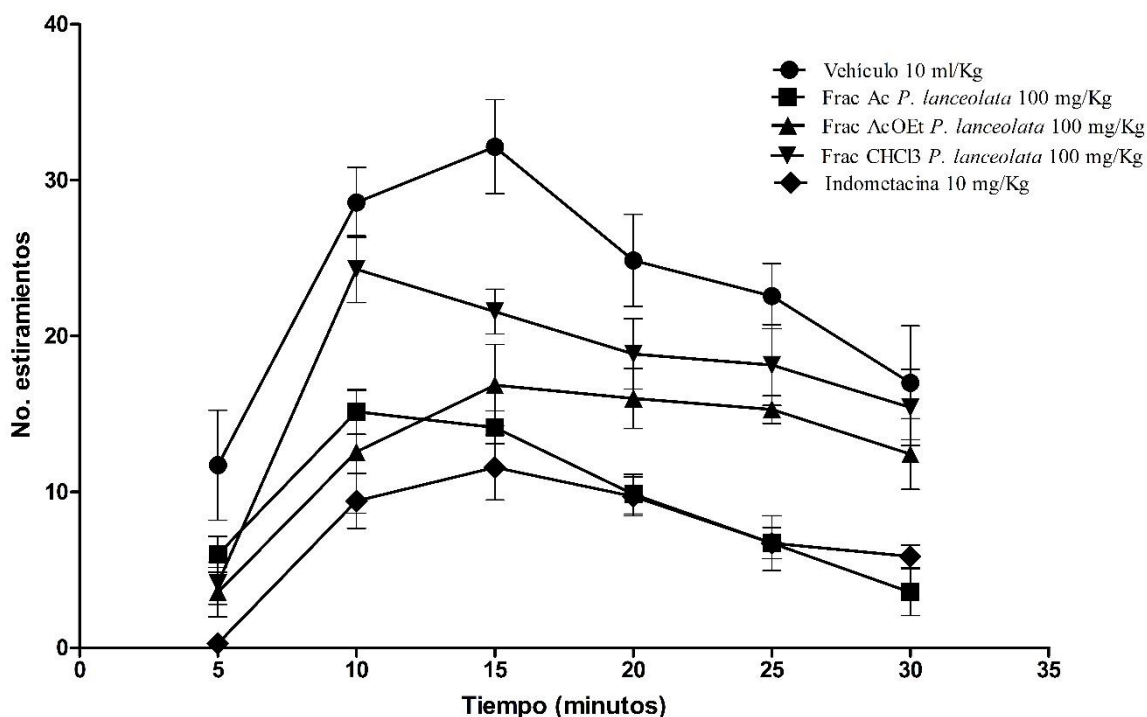


Figura 44. Efecto antinociceptivo de las fracciones de *P. lanceolata* en el modelo Writhing en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *P. lanceolata* comparadas con el vehículo (Tween 80 1%) e Indometacina, previo a la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6 %, en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media \pm EE, n=7.

En la figura 45 se observa el efecto antinociceptivo en ABC contra el tratamiento con las fracciones de la especie *P. lanceolata* administradas a una dosis de 100mg / kg en el

modelo Writhing en ratones CD1. Las fracciones acuosa y de acetato de etilo muestran diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001.

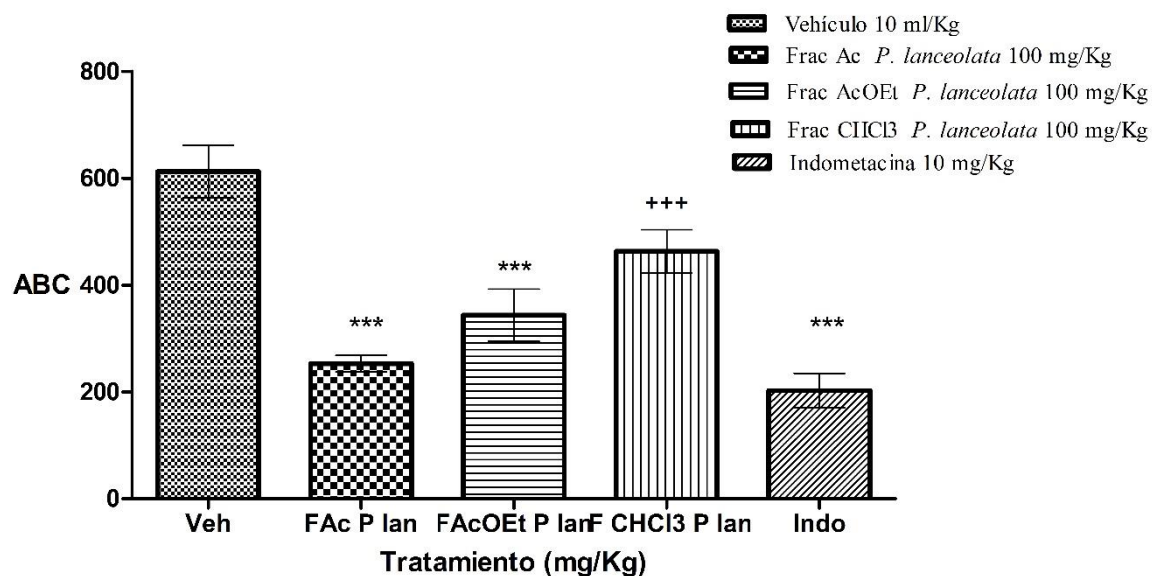


Figura 45. ABC del efecto antinociceptivo de las fracciones de *P. lanceolata* en modelo Writhing en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de *P. lanceolata* en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el vehículo (Tween 80 al 1%) e indometacina. Las barras indican la media \pm EE, n=7. ***p<0.001 Vs Veh y +++ p<0.001 Vs Indo. ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 14 se expone el número de estiramientos observados con la administración de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *P. lanceolata* y su porcentaje de inhibición.

Tabla 14. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por de las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica de la especie *P. lanceolata*, en dosis de 100 mg / kg en el modelo Writhing

Tratamiento	Número de estiramientos ±EE	% de inhibición
Vehículo	966 ±1.52	0
Fracción acuosa de la especie <i>Plantago lanceolata</i>	388 ±0.81	59.83
Fracción acetato de etilo de la especie <i>Plantago lanceolata</i>	537 ±1.14	44.41
Fracción clorofórmica de la especie <i>Plantago lanceolata</i>	717 ±1.28	25.77
Indometacina	305 ±0.79	68.42

7.7. Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Hot plate

En la figura 46, se observa el curso temporal del efecto antinociceptivo resultado de la administración de Acteósido (ACT), de las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* por vía intragástrica y a dosis de 10 mg / kg. Las mediciones se realizaron a diferentes tiempos (t_0 =administración del compuesto), a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos. El compuesto mayoritario tuvo un efecto máximo posible (EMP) de 28.45%.

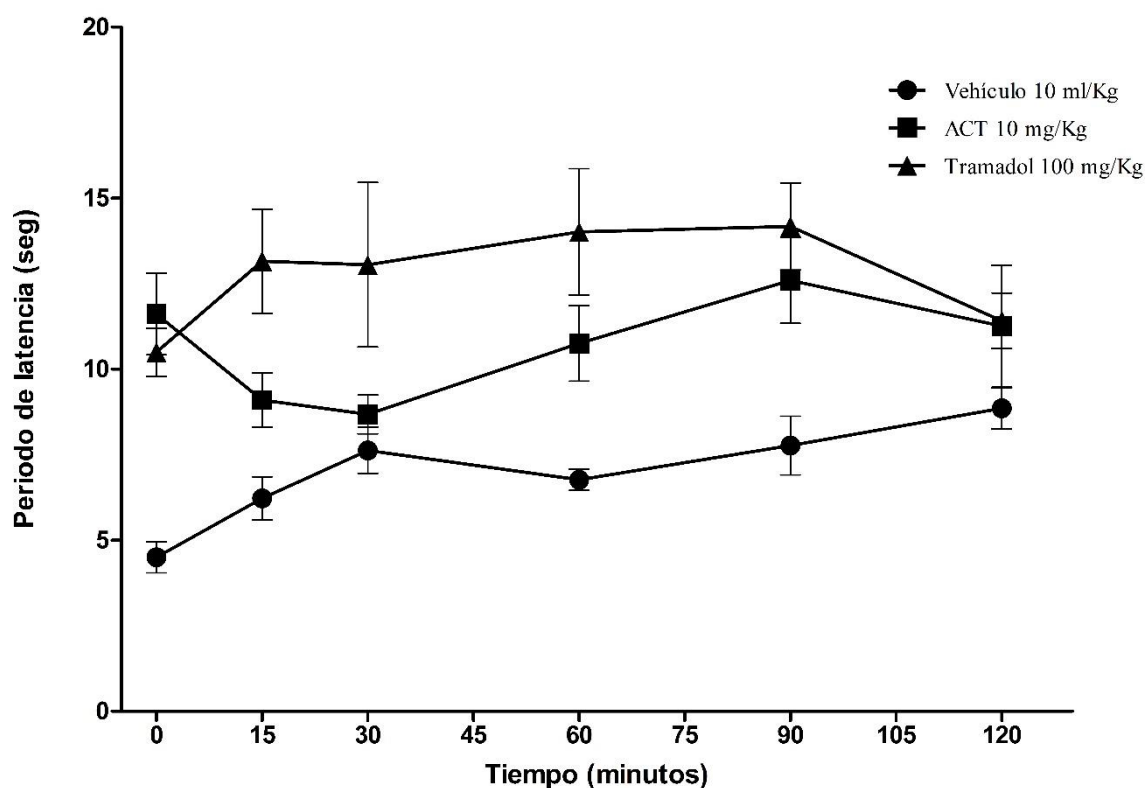


Figura 46. Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* comparado con el vehículo (Tween 80 1%) y Tramadol. Los resultados se expresan en promedio \pm EE del periodo de latencia (n=7).

En la figura 47 se observa el efecto antinociceptivo en ABC contra el tratamiento. El compuesto mayoritario (ACT) de la especie *L. frutescens* y de *P. lanceolata* a una dosis de 10 mg / kg en el modelo de Hot plate en ratones CD1. El compuesto mayoritario mostró diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE del periodo de latencia (n=7). * $p < 0.05$ Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de comparación múltiple de Tukey.

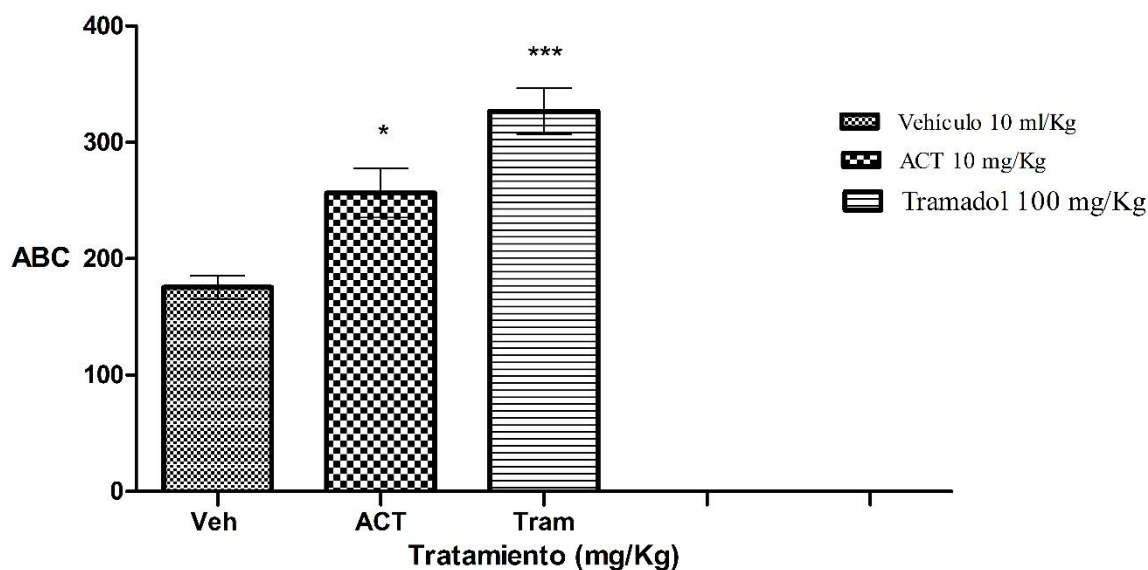


Figura 47. ABC de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* en modelo Hot plate en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, en el modelo de dolor Hot plate comparado con el vehículo (Tween 80 al 1%) y tramadol. Las barras indican la media \pm EE, n=7. * $p < 0.05$ y *** $p < 0.001$ Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 15 se muestra el efecto antinociceptivo para el compuesto mayoritario de las dos especies (ACT), administrado a una dosis de 10 mg / kg de los datos obtenidos en el modelo Hot plate en ratones CD1

Tabla 15. Efecto antinociceptivo en porcentaje de Acteósido (ACT) administrado en dosis de 10 mg / kg en el modelo Hot plate en ratones CD1

Tratamiento	Periodo de latencia (seg) ±EE	% Efecto
Vehículo	6.96 ±0.31	0
Acteósido	10.67 ±0.50	28.45
Tramadol	12.72 ±0.62	44.1

7.8 Efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata* en el modelo de dolor Writhing

En la figura 48, se muestra el efecto antinociceptivo resultado de la administración de ACT de las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* por vía intragástrica a dosis de 10 mg / kg a ratones CD1. El compuesto mayoritario tuvo un 81.39% de actividad comparado con la Indometacina.

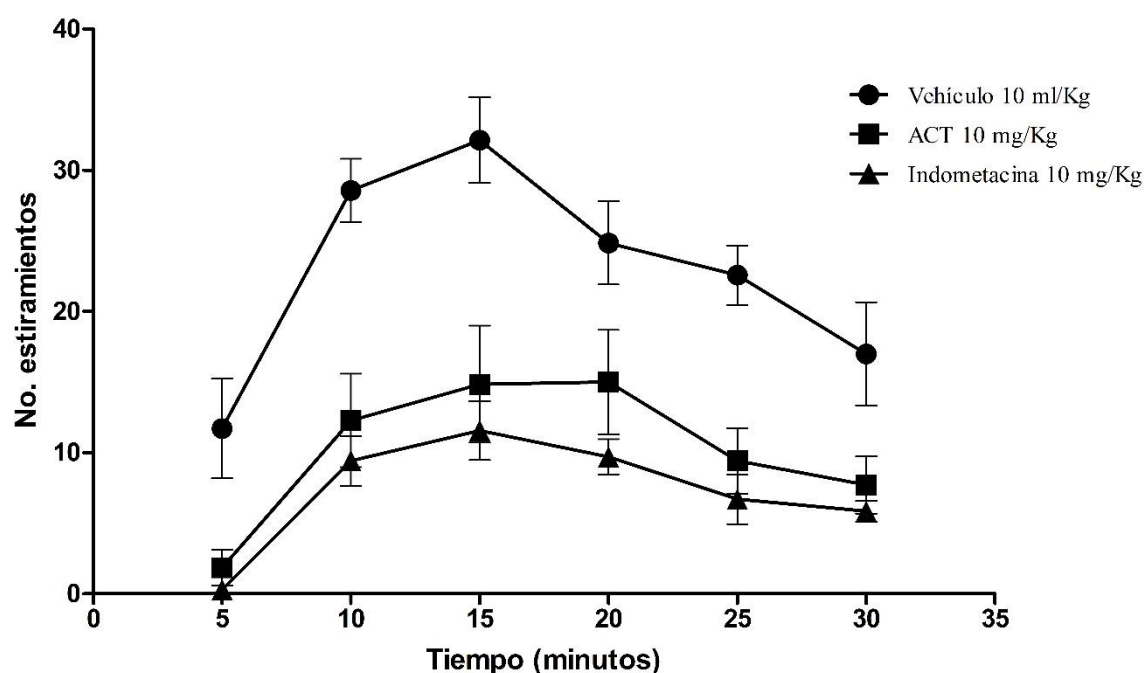


Figura 48. Efecto antinociceptivo de ACT de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* en modelo Writhing en ratones CD1.

Efecto de la administración intragástrica de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, comparado con el vehículo (Tween 80 1%) e Indometacina, previo a la administración de ácido acético al 0.6 %, en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media \pm EE, n=7.

En la figura 49 se observa el efecto antinociceptivo en ABC del tratamiento con el compuesto mayoritario (ACT) de la especie *L. frutescens* y de *P. lanceolata* a una dosis de 10 mg / kg en el modelo Writhing en ratones CD1. El compuesto mayoritario (ACT) mostró diferencia significativa con respecto al vehículo (Tween 80 al 1%). Las barras indican la media \pm EE del número de estiramientos (n=7). ** p<0.01 Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de comparación múltiple de Tukey.

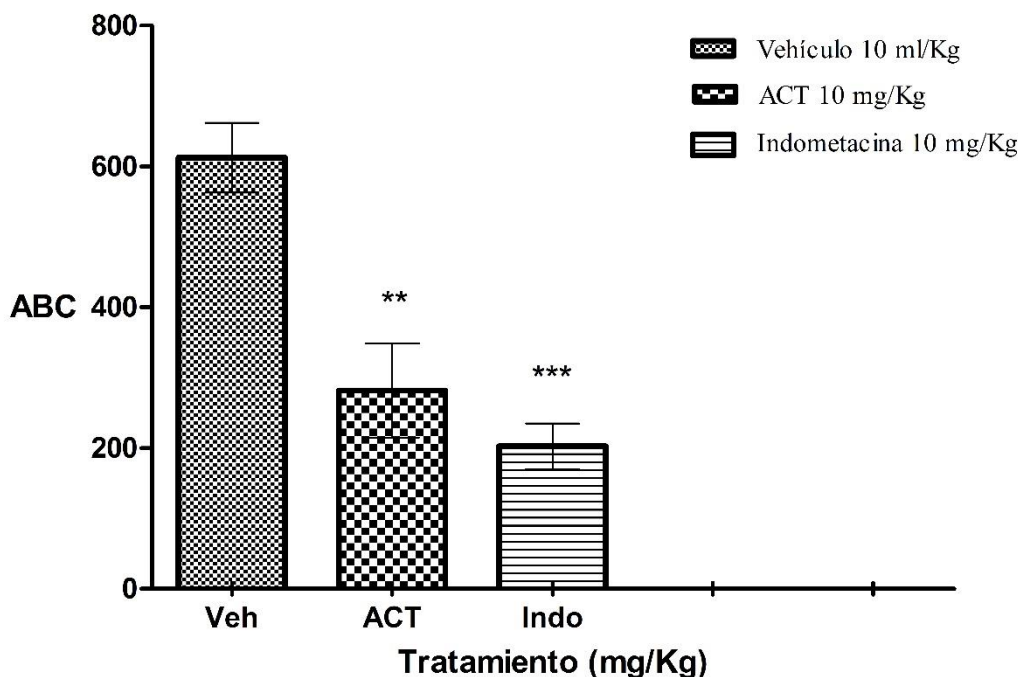


Figura 49. Área Bajo la Curva del efecto antinociceptivo de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* en modelo Writhing en ratones CD1.

La gráfica representa la curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de acteósido (ACT) de la especie *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, en dosis de 10 mg / kg, en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el grupo control vehículo (Tween 80 al 1%) e indometacina en dosis 10 mg / kg. Las barras indican la media \pm EE, n=7. **p<0.01 Vs Veh, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la tabla 16 se expone el número de estiramientos observados con la administración de Acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata* y su porcentaje de inhibición.

Tabla 16. Porcentaje de inhibición de las contracciones abdominales (estiramientos) producido por el acteósido (ACT) de *L. frutescens* y de *P. lanceolata*, en dosis de 10 mg / kg en el modelo Writhing

Tratamiento	Número de estiramientos \pm EE	% de inhibición
Vehículo	966 \pm 1.52	0
Acteósido	428 \pm 1.34	55.69
Indometacina	305 \pm 0.79	68.42

VIII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Efecto antinociceptivo de *L. frutescens*

Leucophyllum frutescens, perteneciente a la familia *Scrophulariaceae* de la cual solo se han estudiado químicamente la tercera parte de los 220 géneros existentes, encontrando la presencia de iridoides (136), fenilpropanoides (137), flavonoides (138) con actividad antiinflamatoria y de terpenos a los que se les atribuye actividad analgésica y antiinflamatoria (132).

El extracto etanólico de la especie *L. frutescens* presentó actividad antinociceptiva significativa ($p < 0.05$) en el modelo Hot plate y de $p < 0.001$ en el modelo Writhing con respecto al vehículo. Al evaluar las fracciones acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica provenientes del extracto etanólico de esta especie en los dos modelos, se observó que el efecto antinociceptivo se incrementó en el modelo Hot plate con una diferencia significativa de $P < 0.001$ en las tres fracciones con respecto al vehículo, mientras que en el modelo Writhing el efecto de estas las fracciones se mantiene igual al extracto total.

Las tres fracciones de la especie *L. frutescens* mostraron mayor actividad antinociceptiva en el modelo Hot plate, lo que sugiere que esta especie alivia el dolor agudo ocasionado por un estímulo térmico (mayor de 45°C), debido a los compuestos activos existentes en esta planta los cuales inhiben el dolor de tipo nociceptivo causado por el estímulo térmico a nivel de los receptores periféricos, fibras A δ y C (21).

El hecho de fraccionar los extractos mejoró la actividad antinociceptiva en el modelo Hot plate. Dicho efecto se puede atribuir tanto a la presencia de compuestos polares como no polares. Esto constituye un primer reporte del efecto antinociceptivo de la especie *L. frutescens* en ambos modelos de dolor.

Con respecto a esto último, se ha reportado que de la especie *L. ambiguum*, conocida como “chamizo” se han aislado cuatro lignanos (**Figura 50**): 2'-metoxiobusina (**23**), 2'-metoxi-4''-hidroxidemetoxobusina (**24**), kobusina (**25**) y 2',2''dimetoxisasamina (**26**), que interactúan con calmodulina (139) proteína de unión al calcio que regula más de 100 enzimas que participan en numerosas procesos fisiológicos como la inflamación (140). De éstos lignanos los compuestos con la mayor actividad inhibitoria fueron kobusina (**25**) y 2',2''dimetoxisasamina (**26**) en comparación con clorpromazina que fue el fármaco de referencia (139).

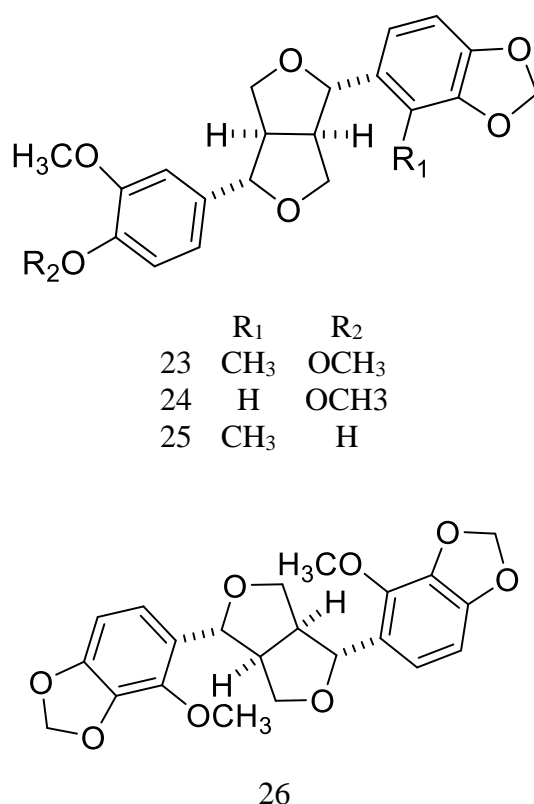


Figura 50. Estructuras de los lignanos aislados de *L. ambiguum* (**23-26**) ⁽¹³⁹⁾

Estos lignanos inhiben la activación de la enzima Fosfodiesterasa cAMP dependiente de calmodulina (139). Se sabe que una forma de obtener analgesia es mediante la interrupción de la transmisión del mensaje doloroso en cualquier punto, los opiáceos y los anestésicos locales son utilizados con este fin, sin embargo su uso no es generalizado por sus efectos colaterales. Se conoce que las sustancias capaces de bloquear la entrada de calcio a las

neuronas espinales (como los bloqueadores de receptores para aminoácidos excitadores de tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), poseen actividad analgésica (141). Rimando et al., aislaron lignanos: epiyangambina (**3**); diayangambina (**4**); diasartemina (**5**) y epiashantina (**6**) de *L. frutescens* (**Figura 21**) (83), por lo que al ser del mismo género y poseer lignanos es posible que tenga la misma actividad sobre la fosfodiesterasa cAMP, lo que pudiera explicar el efecto antinociceptivo mostrado en las tres fracciones de esta especie (81).

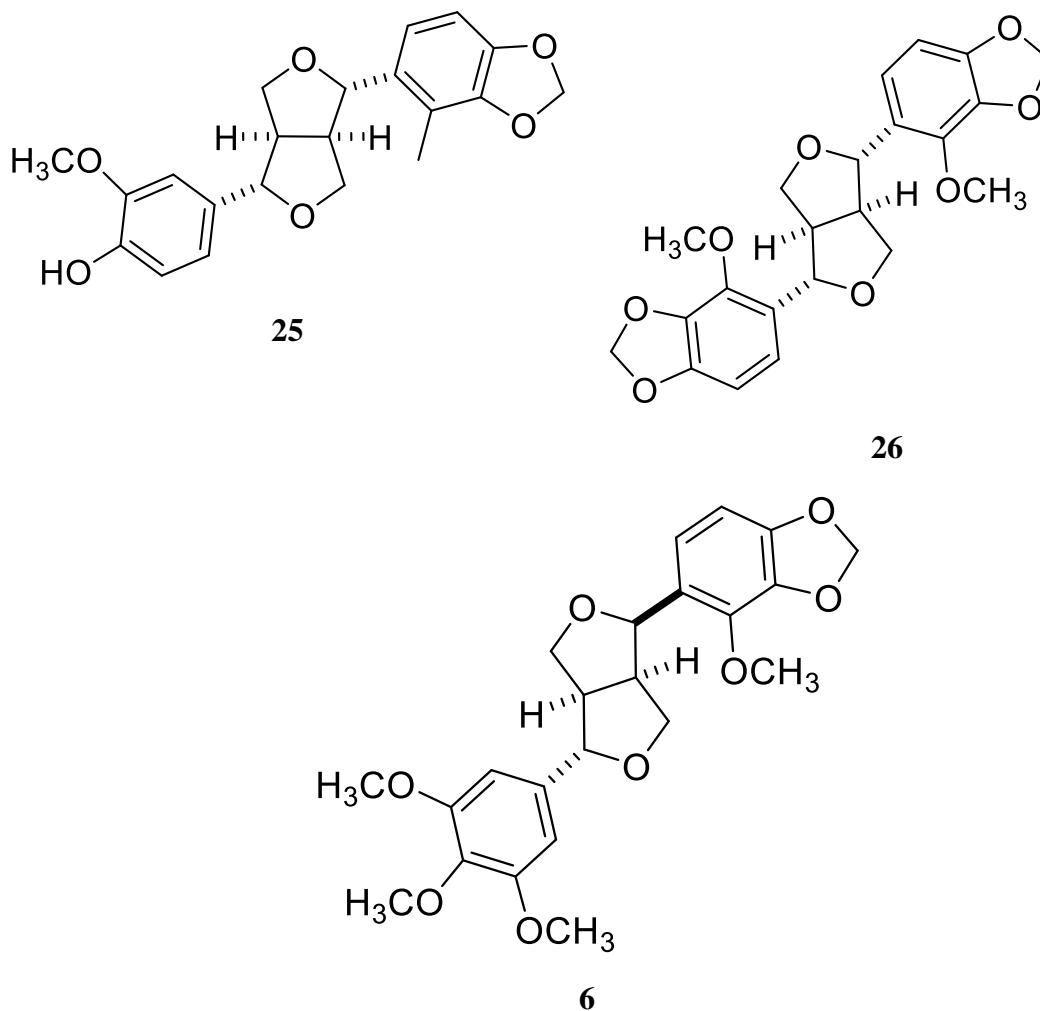


Figura 51. Estructuras de kobusina (**25**) y 2,2 dimetoxisasamina (**26**) aislados de *L. ambiguum* y epiashantina (**6**) aislado de *L. frutescens* ^(83,139)

En un análisis de la estereoquímica de las estructuras activa (**25**) y (**26**) se puede apreciar que conservan la misma configuración espacial, siendo (**26**) más activa que (**25**) se entiende que los O-metilos en el anillo aromático incrementan la actividad, por su parte la estructura (**6**) aislada de *L. frutescens* no conserva la estereoquímica en su totalidad pero si en la

mayor parte de la estructura por lo que pudiera ser responsable de la actividad en las fracciones no polares.

Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan la hipótesis de la participación la especie *L. frutescens* en la inhibición del número de los estiramientos que indica el efecto antinociceptivo periférico mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas ya que el mecanismo nociceptivo de estiramiento o contorsión abdominal inducido por ácido acético implica el proceso o liberación de metabolitos del ácido araquidónico vía ciclooxigenasa (COX) y biosíntesis de prostaglandinas.

8.2. Efecto antinociceptivo de *P. lanceolata*

La evaluación del extracto etanólico de *P. lanceolata* en los modelos Writhing y Hot plate presentó un efecto antinociceptivo significativo comparado con el vehículo ($P < 0.001$) y similar los fármacos de referencia indometacina y tramadol, respectivamente. Al evaluar las fracciones se observó que la fracción acuosa fue la que presentó actividad antinociceptiva con diferencias significativas para Writhing ($p < 0.001$) y en el modelo Hot plate ($p < 0.01$), lo que sugiere que la presencia de compuestos de tipo polar pudieran ser los responsables del efecto. La fracción de acetato de etilo mostró una actividad antinociceptiva menor que la fracción acuosa, pero diferencia significativa contra el vehículo ($p < 0.05$) para una mayor significancia en Hot plate y ($p < 0.001$). Sin embargo, la fracción clorofórmica no tuvo efecto significativo con respecto al vehículo en ambos modelos, la cual sugiere que esta fracción menos polar no presenta principios activos con actividad antinociceptiva y que éstos pudieran estar presentes en las fracciones acuosa y de acetato de etilo.

P. lanceolata se ha reportado útil para el alivio del dolor (94). En los análisis fitoquímicos de las especies de *Plantago* se ha observado la presencia de grasas y aceites (88) además de terpenoides (142), derivados del ácido caféico (19) (143), cumarinas (144), flavonoides (138), iridoides (136) estos últimos han reportado tener actividad antiinflamatoria, alcaloides y ácido ascórbico a los que se les atribuye actividad analgésica (145).

P. lanceolata es utilizada de manera tradicional como antiinflamatorio, se ha descrito que los componentes principales son iridoides heterosídicos: aucubina (9) (Figura 25), catapol (10) (Figura 26) y asperulósido (11) (Figura 27), mucílagos (Figura 28), ácidos fenoles y derivados del ácido caféico (19) (Figura 29) como el acteósido (22) (Figura 30). Además posee compuestos fenólicos, predominantemente flavonoides y derivados del ácido hidroxicinámico. Los constituyentes que han mostrado actividad antiinflamatoria, son los iridoides heterosídicos (aucubina) y los derivados del ácido caféico, como el plantamajósido (21) (Figura 29) y el acteósido (22) (Figura 30) (90,96). Se conoce que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago lanceolata* inhiben la actividad de la COX-2 por lo que se explica el efecto antinociceptivo observado (103).

La especie *P. lanceolata* mostró mayor actividad en el modelo Writhing, por lo que se sugiere que alivia el dolor agudo tónico-fásico que incluye el componente inflamatorio a nivel de fibras aferentes sensitivas C, ya que éstas se activan en el dolor lento sordo, indefinido o duradero como el dolor visceral (19,25).

Estos resultados apoyan la hipótesis de la participación la especie *P. lanceolata* en la inhibición del número de los estiramientos abdominales, que indica el efecto antinociceptivo periférico mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, ya que el mecanismo nociceptivo de estiramiento o contorsión abdominal inducido por ácido acético implica el proceso o liberación de metabolitos del ácido araquidónico vía ciclooxigenasa (COX) y biosíntesis de prostaglandinas. Además, estos resultados constituyen un primer reporte de efecto antinociceptivo de la especie *P. lanceolata* en ambos modelos de dolor.

8.3. Efecto antinociceptivo de Acteósido

El estudio fitoquímico de las dos especies condujo al aislamiento de acteósido como compuesto mayoritario, que fue aislado de la fracción acuosa y una menor parte en la fracción de acetato de etilo.

El acteósido (22) (Figura 30) mostró actividad antinociceptiva reportada en los dos modelos utilizados, por lo que el efecto de las dos especies se debe en parte a su presencia.

En el modelo Hot plate el efecto antinociceptivo de la especie *P. lanceolata* puede deberse en mayor parte a acteósido, ya que éste fue aislado de la fracción acuosa y acetato de etilo siendo dichas fracciones las que muestran el mayor efecto.

En el modelo Writhing se conoce que la sensación de dolor en los estiramientos inducidos por ácido acético se obtiene mediante la generación de respuesta inflamatoria localizada, por lo que se infiere que el efecto antinociceptivo de la especie pudiera ser debido principalmente a la presencia de fenilpropanoides (acteósido o verbascósido) y estaría sinergizado por la presencia de iridoides como: asperulósido, aucubina y catapol, flavonoides como luteolina-7-O- β -glucósido que se ha reportado como el principal flavonoide aislado del género, aunque su actividad analgésica no ha sido evaluada (146). Sin embargo la luteolina ha presentado actividad antiinflamatoria por lo que pudiera contribuir con el efecto observado (147). Además de terpenos (que han sido aislados en especies de la misma familia) como el ácido ursólico que se encuentra en las *Plantagináceas* y se ha reportado inhibe la ciclooxigenasa I y II (94,148), con actividad antiinflamatoria al inhibir la liberación de mediadores inflamatorios (149).

El acteósido ACT es un feniletanoide, derivado hidrosoluble de los fenilpropanoides. Estos compuestos se caracterizan por una fracción hidroxifeniletíl vinculado a una β -glucopiranososa (galactosa, ramnosa o xilosa) a través de un enlace glucosídico. Actualmente es considerado un principio antinociceptivo ya que Nakamura et al., lo evaluaron en el modelo writhing administrándolo por vía subcutánea obtuvieron la inhibición del 40% de los estiramientos a una dosis de 300 mg / kg y tras la administración intravenosa de 23 , 41 y 63 % ($p < 0.001$) a dosis de 2, 10 y 50 mg / kg lo que avala el resultado obtenido en este estudio que fue de 55.6 % ($p < 0.01$) a una dosis de 10 mg / kg por vía oral comparado con indometacina a una dosis de 100 mg / kg (123). Estudios farmacológicos demuestran que ACT posee actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, anticarcérgena (citotóxico),

antioxidante, neuroprotectora, hepatoprotectora e inmunomoduladora (modula la producción de óxido nítrico) (124–128).

Es un componente considerado de polaridad media por lo que estará mayormente presente en la fracción acuosa y la de acetato de etilo y muy poco en la clorofórmica. Además se sabe que el acteósido modula la producción de óxido nítrico (128) el cual está implicado en el dolor tónico como mediador de la inflamación por lo que puede deberse a esta regulación el efecto antinociceptivo de las dos especies en el modelo Writhing.

El acteósido (verbascósido) es un constituyente característico de plantas *Scrophulariales*, como *L. frutescens* (150) y ha sido aislado también de *Plantago lanceolata* por lo que ambas especies lo contienen (151).

La actividad antinociceptiva del acteósido concuerda con lo publicado por Isacchi et al., en el año 2011. Este grupo mostró que la administración aguda de acteósido en dosis de 100 mg / kg i. p. y 300-600 mg / kg oral revierten la hiperalgesia mecánica en animales con daño neuropático (126).

Y con lo publicado por Amin et al., quienes examinaron los efectos de acteósido en ratas con lesión crónica de constricción (ICC). A dichas ratas se les administró acteósido a dosis de 50, 100 y 200 mg / kg, i.p, a partir del día de la cirugía durante 14 días. Se evaluaron niveles medulares de apoptosis, marcadores de glía y de estrés oxidativo y se observó que el acteósido atenuó significativamente los cambios de comportamiento asociados con la neuropatía (152).

En resumen, nuestros datos sugieren que las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* poseen actividad farmacológica antinociceptiva a nivel de nociceptores periféricos fibras A δ (nocicepción térmica y química) y C (polimodal), ya que el periodo de latencia y el número de estiramientos observado en ratones CD1 disminuyen significativamente con respecto al control.

Por los datos obtenidos, se valida el uso de estas especies para el tratamiento del dolor agudo ligado al reflejo supraespinal que activa las fibras A δ y C la piel. Además en el tratamiento del dolor agudo de tipo inflamatorio por inhibir la liberación de sustancias pro-inflamatorias. Este trabajo constituye el primer estudio en el cual se realiza la evaluación antinociceptiva para las especies *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata*.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que las dos especies evaluadas modulan la respuesta nociceptiva inducida tanto por el estímulo térmico como por el estímulo químico.

IX CONCLUSIONES

- El extracto etanólico, las fracciones: acuosa, de acetato de etilo y clorofórmica así como el compuesto mayoritario denominado acteósido aislado de *Leucophyllum frutescens* y de *Plantago lanceolata* mostraron actividad antinociceptiva en los modelos Hot plate y Writhing.
- Los resultados obtenidos de la evaluación antinociceptiva son los primeros realizados a las especies *Leucophyllum frutescens* y *Plantago lanceolata*, por lo que contribuyen al conocimiento farmacológico de las plantas medicinales del estado de Hidalgo.

X RECOMENDACIONES

Debido a que las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* mostraron actividad antinociceptiva en los modelos Hot plate y Writhing se sugiere realizar la evaluación mediante modelos animales de dolor inflamatorio: prueba de formalina, edema inducido por carragenina (CA) y modelo de edema auricular inducido por una aplicación de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA).

Por la actividad mostrada por las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata* en los dos modelos Hot plate y Writhing se recomienda realizar el estudio fitoquímico de las fracciones para la obtención de los compuestos puros.

Se recomienda realizar el estudio farmacológico para determinar el posible mecanismo de acción que pudiera tener el compuesto mayoritario denominado acteósido, aislado en las especies *L. frutescens* y *P. lanceolata*. Mediante el empleo de dos experimentos: evaluando la inflamación *in vitro* con una línea celular inducida por lipopolisacárido y amigdalina e *in vivo* con el modelo de artritis inducida con carragenina en ratones y medir los marcadores moleculares de dolor e inflamación: c-FOS, TNF alfa e IL-1 β .

XI BIBLIOGRAFÍA

1. Scholz J, Woolf CJ. Can we conquer pain? *Nat Neurosci.* 2002;5 Suppl(november):1062–7.
2. Medrano-García R, Varela-Hernández CA, Domínguez-Nápoles M, Pardo-Camacho G, Acosta-Davison Y, Pardo-Cardoso G. Epidemic aspects related with pain in the adult population. *Arch Méd Cam.* 2010;14(4).
3. Covarrubias-Gómez A. Pain clinics in Mexico. *Rev Mex Anesthesiol.* 2008;31(1):66–70.
4. Calleja-Hernández, M.A. Fernández-Gómez I. Seguimiento Farmacoterapéutico [Internet]. Universidad de Granada España. 2003 [citado el 20 de mayo de 2008]. Disponible en: http://www.ugr.es/~cts131/esp/guias/GUIA_DOLOR.pdf.
5. Vilallonga JR. Neuroanatomía del dolor: Bases anatómicas de la percepción dolorosa. En: Busquets C RM, editor. *Unidades de dolor Realidad hoy, reto para el futuro.* Colección. Barcelona, España: Academia de Ciencias Medicas de Cataluña y de Baleares; 2002. p. 217–50.
6. Pizzo PA, Clark NM. *Relieving Pain in America: A blueprint for transforming Prevention, Care, Education and Research.* 10th editi. Sciencies TNA of, editor. Washington D.C.: The National Academy of Sciencies; 2011. 382 p.
7. Weiser C, Sola I, Aromatis E, Tornero J, Pérez C, Margarit, C. et al. Epidemiology of chronic non-malignant pain in Spain. primera. Fundación Grünenthal, editor. Madrid, España; 2010. 12-13 p.
8. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. OMS. OMS, editor. Vol. 1, Organización Mundial de la Salud. Hong Kong, China: OMS; 2013. 72 p.
9. Cruz-Minier C, Espinal G, Castillo D. Sensibilidad y resistencia del *Staphilococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pyogenes* frente a cuatro plantas utilizadas en atención primaria de salud por los pobladores del Batey Palavé. *Cienc Soc.* 2008;XXXIII(2):153–65.
10. Almaguer J, Vargas V, García H, A. y R. Fortalecimiento y desarrollo de la medicina tradicional mexicana y su relación intercultural con la medicina

- institucional. Primera. Salud S de, editor. Secretaría de Salud. México: Secretaría de Salud; 2002. 1-21 p.
11. Romero CD, Chopin SF, Buck G, Martinez E, Garcia M, Bixby L. Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. *J Ethnopharmacol.* 2005;99(2):253–7.
 12. Schlaepfer L, Mendoza-Espinoza J. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer relevancia para México. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2010;41:18–27.
 13. Ortega A, Roca A, Micó JA. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev la Soc Esp del Dolor.* 2002;9(7):447–53.
 14. Micó, J.A. and Ortega A. Modelos animales de dolor. *Reumatol Clínica.* 2006;2:S2-4.
 15. Armero P, Muriel C, Santos J, Sánchez-Montero F, Rodríguez R, González-Sarmiento R. Bases genéticas del dolor. *Rev la Soc Esp del Dolor.* 2004;11(7):444–51.
 16. Moreno C, Prada DM. Fisiopatología del dolor clínico. *Asoc Colomb Neurol.* 2004;(2):9–21.
 17. Rodríguez, L Blanco A. Evaluación del dolor. *Boletín Psicol.* 2005;84(July 2005):77–89.
 18. Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncol .* 2005;28(3):139–43.
 19. Kopf A, Patel NB. Guía para el manejo del Dolor en condiciones de bajos recursos. Primera. Kopf, Andreas Y Patel N, editor. IASP® • Washington, D.C. Washington D.C.: Asociación Internacional para el Estudio del dolor; 2010. 1-412 p.
 20. Cantabria U De. Funciones Sensoriales [Internet]. Funciones sensoriales: sistema somatosensorial. 2014 [citado el 1 de enero de 2017]. p. 1–6. Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-humana-2011-g367/material-de-clase/bloque-tematico-6.-fisiologia-del-sistema-nervioso/tema-2.-funciones-sensoriales-sistema/tema-2.-funciones-sensoriales-sistema>
 21. Julius D. Molecular mechanisms of nociception . *Nature.* 2001;413(September):203–10.
 22. Heavner J, Willis WJ. Tratamiento práctico del dolor. En: Abrams B, Benzón H,

- Ilahn M, Heavner J, Niv D, Parris W, et al., editores. Tratamiento práctico del dolor. Tercera. Madrid-Barcelona-Boston-Filadelfia-Londres-Orlando-Sidney-Tokio-Toronto: Harcourt / Mosby; 2001. p. 115–20.
23. Basbaum, A.I., Jessell, K., Kandel, E.R. SJ. Principles of neural science. En: McGraw-Hill, editor. The perception of pain. 4th ed. U.S.A.; 2000. p. 472–9.
 24. Fernández-Díaz J, Chahboun Guasch A. Fibras sensoriales Scykness [Internet]. 2017. 2017 [citado el 25 de mayo de 2017]. p. 1. Disponible en: <https://scykness.wordpress.com/2013/04/19/neurofisiologia-fisiologia-de-los-receptores/>
 25. Millan MJ. The induction of pain: An integrative review. Vol. 57, Progress in Neurobiology. 1999. p. 1–164.
 26. Parra G, Herrera J, Rivera S, Rojas G, Romero M, Garnica R. Uso de tramadol como analgesia postoperatoria en cesárea . Rev Espec medico-quirurgicas. 2005;
 27. Romera E, Perena M, Perena M, Rodrigo M. Neurofisiología del dolor. 2014;1–20.
 28. Lopez A, Iturralde F, Clerencia M, Galindo J. Dolor. En: Tratado de Geriatria para residentes. 2005. p. 721–31.
 29. Woolf CJ. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. Ann Intern Med. 2004;140(6):441–51.
 30. Salgado-Aguayo A, Vaca-Domínguez LA. LAS BASES MOLECULARES DE LA PERCEPCIÓN DE TEMPERATURA EN EL HUMANO. REB. 2009;28(2):36–41.
 31. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. NIH Public Access. 2010;139(2):267–84.
 32. Herrera E, Galindo R, Díaz JJ, Vargas L. Revisión de Tema Los canales TRP y su participación en la termotransducción. Salud UIS. 2008;22.
 33. Medwave. 1 [Internet]. 2008. p. 2008 sep;8(8):e1654 doi: 10.5867/medwave.2008.08.1. Disponible en: <http://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/1654>
 34. Garcia JBS, Hernandez-Castro JJ, Nunez RG, Pazos MAR, Aguirre JO, Jreige A, et al. Prevalence of Low Back Pain in Latin America: Pain Physician. 2014;17(5):379–91.
 35. Covarrubias A GU. ¿Qué son las clínicas del dolor? Rev Dig Univ. 2006;7(4):1–8.

36. Benedetti C CC. III Meeting of pain section of siaarti international J. J. Bonica memorial. *Minerva Anesthesiol.* 2005;71(7-8):391-6.
37. FEDERACIÓN DOD LA. NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 1999.
38. Diario Oficial de la Federración. NOM-011-SSA3-2014. Criterios para la atención de enfermos en situación terminal a través de cuidados paliativos. 2014. 2014;1-8.
39. Serrano MS, Caballero J, Cañas A, García-Saura PL, Ser -Á rez C, Prieto J, et al. Valoración del dolor (I) R E V I S I Ó N. *Rev Soc Esp Dolor.* 2002;9(I):94-108.
40. Blanco E, Espinosa J, Carrera H, Rodríguez M. BUENA PRÁCTICA CLÍNICA en Dolor y su tratamiento. *Atencion primaria de calidad.* 2009. 1-120 p.
41. Vallejos Narváez A, Al. E. Analgesics in hospitalized patients: Topic review. *Rev Col Cienc Quim Farm.* 2015;44(1):107.
42. Navarro-Hernández, J., Ramírez-Ojeda, R., Villagrán-Vélez C. Manual De Procedimientos Recomendables Para La Investigación Con Animales. Vol. XXXIII, Uma ética para quantos? 2012. 81-87 p.
43. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *Biomedicina.* 2006;2(3):252-6.
44. Baños JE, Ruiz-Barría G. La evaluaci??n del dolor experimental en el laboratorio: Los modelos de dolor neurop??tico en animales. *Rev la Soc Esp del Dolor.* 2006;13(8):542-52.
45. González-Darder J. Modelos animales de dolor y aspectos éticos de la experimentación animal. *Rev Soc Esp Dolor.* 2000;7:313-8.
46. Boyce-Rustay JM, Honore P, Jarvis MF. Animal models of acute and chronic inflammatory and nociceptive pain. En: *Methods in molecular biology (Clifton, NJ).* 2010. p. 41-55.
47. Meltzer HY. Drug discovery and evaluation. *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress.* 2002. 441-443 p.
48. Giusti P, Buriani A, Cima L, Lipartiti M. Effect of acute and chronic tramadol on [3H]-5-HT uptake in rat cortical synaptosomes. *Br J Pharmacol.* 1997;122(2):302-6.
49. Ness TJ. Models of Visceral Nociception. *ILAR J.* 1999;40(3):119-28.
50. Franzotti EM, Santos CVF, Rodrigues HMSL, Mour??o RH V, Andrade MR,

- Antoniolli AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). *J Ethnopharmacol.* 2000;72(1-2):273-8.
51. Bastos GNT, Santos ARS, Ferreira VMM, Costa AMR, Bispo CI, Silveira AJA, et al. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. *J Ethnopharmacol.* 2006;103(2):241-5.
 52. Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato ABP, Poole S, Ferreira SH, et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol.* 2000;387(1):111-8.
 53. Radu BM, Bramanti P, Osculati F, Flonta ML, Radu M, Bertini G, et al. Neurovascular unit in chronic pain. *Mediators Inflamm.* 2013;2013.
 54. Sinke C, Schmidt K, Forkmann K, Bingel U. Phasic and tonic pain differentially impact the interruptive function of pain. *PLoS One.* 2015;10(2):1-13.
 55. Salud OM de la. Directrices de la OMS sobre el tratamiento farmacológico del dolor persistente en niños con enfermedades médicas. Ginebra, Suiza; 2012. 8 p.
 56. Rodríguez Carranza R, Vidrio H, Campos Sepúlveda A. Guía farmacológica y terapéutica. McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES S. de CV, editor. México: Universidad Autónoma de México; 2007. 43-50 p.
 57. Vega-Menchaca M, Verde-Star J, Oranday-Cárdenas A, Morales-Rubio M, Nuñez-González M, Rivera-Guillén M, et al. Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* (Berl) I.M. Johnston del Norte de México contra *Staphylococcus aureus* de aislados clínicos. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2013;44(2):24-30.
 58. Paris P, Stewart R. Tratamiento del dolor en medicina de urgencias. *El Manual Moderno*; 1990. 1-157 p.
 59. Torpy J, Cassio Lynn M, Glass R. Pain Management. *JAMA* 2003;290(18):2504-2504. 2003;290(18):2504.
 60. Rivera-Ordóñez A. AINES: Su mecanismo de acción en el sistema nervioso central. *Rev Mex Anestesiología.* 2006;29(1):36-40.
 61. Raffa RB, Rawls SM, Portyansky B. E. *Netter Farmacología Ilustrada.* 1a ed. Barcelona, España: ELSEVIER- MASSON; 2008. 88-89 p.

62. Lucas S. The Pharmacology of Indomethacin. *Headache*. 2016;56(2):436–46.
63. Hospitalario CC, Cid J. Disfunción intestinal producida por opioides. 2015;(January 2013).
64. Hernández-Delgadillo GP, Martínez RV, Díaz Reval MI, Domínguez Ramírez AM, López-Muñoz FJ. Metamizol potentiates morphine antinociception but not constipation after chronic treatment. *Eur J Pharmacol*. 2002;441(3):177–83.
65. Hernández-Palacios J, Moyao-García D, Ramírez-Mora J. Efectividad y efectos secundarios del tramadol y la nalbufina en infusión para analgesia postoperatoria. *Rev Mex Anestesiología*. 2007;30(1):329–34.
66. Martindale. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 2009. 130-132 p.
67. Rodríguez RF, Daza P, Rodríguez MF. Tratamiento farmacológico del dolor en pacientes con cáncer. *Colomb Med*. 2006;37(3):242–6.
68. Colmenares A. Barbitúricos en anestesia [Internet]. SlideShare. 2017. p. 1. Disponible en: <https://es.slideshare.net/CarlosArturoColmenares/barbitricos-en-anestesia>
69. Darío R, Patiño R, Luis J, Díaz A. Anestésicos locales: de los conceptos básicos a la práctica clínica Estructura química y mecanismo de acción. *Rev Col Or Tra*. 2010;24(1):32–9.
70. Homedes N, Ugalde A. Mexican pharmacies: benefits and risks for border residents in the United States of America and Mexico. *Farm Mex Benef y riesgos para los Resid la Front entre Estados Unidos América y México*. 2013;33(3):196–204.
71. Calderón-Guzmán D, Juárez-Olguín H, Hernández-García E, Medina-Andrade A, Juárez Tapia B. Prescription and consumption of solid oral drugs dispensed as unitary doses in a third level hospital. *Saudi Pharm J*. 2016;24(2):213–9.
72. Ocegueda S, Moreno E, Koleff P. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *Biodiversitas*. 2005;12–5.
73. Cortez-Gallardo V, Macedo-Ceja J, Arteaga-Aureoles G. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev Biomed*. 2004;15(2):123–36.
74. Royo-Márquez M, Melgoza-Castillo A, Sierra-Tristán J. Flora medicinal del estado de Chihuahua. *Rev Mex Cien For*. 2013;4(18):58–69.

75. Muñeton Perez P. Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. . Entrevista con el Mtro. Erick Estrada Lugo. Rev Digit Univ. 2009;10(9):2–9.
76. Pérez-Escandón, BE Villavicencio-Nieto, MA Ramírez-Aguirre A. Lista de plantas útiles del estado de Hidalgo. E. L-T, editor. México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2003. 3-11 p.
77. Molina-Salinas G, Rivas-Galindo V, Said-Fernández S, Lankin D, Muñoz M, Nathan P, et al. Stereochemical Analysis of Leubethanol, an Anti-TB Active Serrulatane, from *Leucophyllum frutescens*. J Nat Prod. 2011;454(1):42–54.
78. Hull G. *Leucophyllum frutescens* [Internet]. Webmaster & Author. 2003 [citado el 17 de febrero de 2017]. Disponible en: http://web.gccaz.edu/glendalelibrary/images/Leucophyllum_frutescens_Green_Cloud-2.jpg
79. Faith-Cherotich K. The importance of Scrophulariaceae family as a source of herbal and conventional medicines. University of Nairobi; 2011.
80. Lu JMH, Perkins M V., Griesser HJ. Total synthesis and structural confirmation of the antibacterial diterpene leubethanol. Tetrahedron. 2013;69(31):6468–73.
81. Balderas-Renteria I, Camacho-Corona MDR, Carranza-Rosales P, Lozano-Garza HG, Castillo-Nava D, Alvarez-Mendoza FJ, et al. Hepatoprotective effect of *Leucophyllum frutescens* on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. Ann Hepatol. 2007;6(4):251–4.
82. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana H en M. Cenizo *Leucophyllum frutescens* [Internet]. Flora medicinal indígena de México II. 2009 [citado el 30 de marzo de 2017]. p. 1. Disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/flora2.php?l=4&t=Cenizo&po=&id=5023&clave_region=9
83. Rimando AM, Dayan FE, Mikell JR, Moraes RM. Phytotoxic lignans of *Leucophyllum frutescens*. Nat Toxins. 1999;7(1):39–43.
84. Alanís-Garza BA, González-González GM, Salazar-Aranda R, Waksman de Torres N, Rivas-Galindo VM. Screening of antifungal activity of plants from the northeast of Mexico. J Ethnopharmacol. 2007;114(3):468–71.

85. Alanis-Garza B, Salazar-Aranda R, Ramirez-Duron R, Garza-Gonzalez E, Waksman de Torres N. A new antimycobacterial furanolignan from *Leucophyllum frutescens*. *Nat Prod Commun.* mayo de 2012;7(5):597–8.
86. Sarojin- Santhosh, R Suriyanarayanan B. Plants: A Source for New Antimycobacterial Drugs. *Planta Med.* 2014;80:9–21.
87. Espinosa-Leal C, Treviño-Neávez J, Garza-Padrón R, Verde-Star M, Rivas-Morales C, Morales-Rubio M. Contenido de fenoles totales y actividad anti-radical de extractos metanólicos de la planta silvestre y cultivada in vitro de *Leucophyllum frutescens* Total phenols and anti-radical activity of methanolic extracts from wild and in vitro. 2015;
88. Fons F, Gargadennec A, Rapior S. Culture of *Plantago* species as bioactive components resources: a 20-year review and recent applications. *Acta Bot Gall.* 2008;155(2):277–300.
89. Ferrazano G., Cantile T, Roberto L, Ingenito A, Catania M., Roscetto E, et al. Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary *Streptococci* and *Lactobacilli* and chemical characterisation of the phenolic content of a *Plantago lanceolata* infusión. *Biomed Res Int.* 2016;286817.
90. Barcelona U. Plantas medicinales y drogas vegetales: Llantén menor. *OFFARM.* 2002;21(4):163–4.
91. Attribution-ShareAlike TCC. *Plantago lanceolata* [Internet]. The Wikimedia Foundation, Inc., a non-profit organization. 2016. Disponible en: https://en.wikipedia.org/wiki/Plantago_lanceolata#/media/File:Ribwort_600.jpg
92. Menéndez-Valderrey J. *Plantago lanceolata* L. [Internet]. [Internet]. 2016. p. Asturnatura.com. Disponible en: <https://www.asturnatura.com/especie/plantago-lanceolata.html>
93. Inkaplus. *Plantago major* L. 2.- [Internet]. 1996. p. 3. Disponible en: <http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/LLanten.pdf>
94. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(1–2):1–21.
95. Ferrazzano GF, Cantile T, Roberto L, Ingenito A, Catania MR, Roscetto E, et al. Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary

- streptococci and lactobacilli and chemical characterisation of the phenolic content of a plantago lanceolata infusion. *Biomed Res Int*. 2015;2015(286817):1–8.
96. Mansoor K, Qadan F, Schmidt M, Mallah E, Abudayyih W, Matalka K. Stability Study and a 14-Day Oral Dose Toxicity in Rats of Plantain Leaf Extract (*Plantago lanceolata* L.) Syrup. *Sci Pharm*. 2017;85(1):15.
 97. Haddadian K, Haddadian K, Zahmatkash M. A review of plantago plant. *Indian J Tradit Knowl*. 2014;13(4):681–5.
 98. Brautigam M, Franz G. Structural Features of *Plantago lanceolata* Mucilage. *Planta Med*. 1985;51(4):293–7.
 99. Clifford SC, Arndt SK, Popp M, Jones HG. Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. *J Exp Bot*. 2002;53(366):131–8.
 100. Murai M, Tamayama Y, Nishibe S. Phenylethanoids in the Herb of *Plantago lanceolata* and Inhibitory Effect on Arachidonic Acid-Induced Mouse Ear Edema. *Planta Med*. 1995;61(5):479–80.
 101. Shipochliev T, Dimitrov A, Aleksandrova E. Anti-inflammatory action of a group of plant extracts. *Vet Med Nauki*. 1981;18(6):87–94.
 102. Murai M, Tamayama Y, Nishibe S. Phenylethanoids in the Herb of *Plantago lanceolata* and Inhibitory effect on Arachidonic Acid-induced mouse ear edema. *Planta Med*. 1995;61(1995):479–80.
 103. Herold A, Cremer L, Calugaru A, Tamas V, Ionescu F, Manea S, et al. Hydroalcoholic plant extract with anti-inflammatory activity. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2003;62(1–2):117–29.
 104. Vigo E, Cepeda A, Gualillo O, Perez-Fernandez R. In-vitro anti-inflammatory activity of *Pinus sylvestris* and *Plantago lanceolata* extracts: effect on inducible NOS, COX-1, COX-2 and their products in J774A.1 murine macrophages. *J Pharm Pharmacol*. 2005;57(3):383–91.
 105. Hausmann M, Obermeier F, Paper D., Balan K, Dunger N, Menzel K, et al. In vivo treatment with the herbal phenylethanoid acteoside ameliorates intestinal inflammation in dextran sulphate sodium-induced colitis. *Clin Exp Immunol*. 2007;148(2):373–8.

106. Shipochliev T. Uterotonic action of extracts from a group of medicinal plants. *Vet Med Nauk.* 1981;18(4):94–8.
107. Romay Penabad T, Sotolongo Baró MDC, Sebazco Pernas C, Perdomo Paiba ME. Toxicología subcrónica bucal del extracto fluido de *Plantago lanceolata* L. *Rev Cuba Plantas Med.* 1996;1(2):24–6.
108. Ruiz AR, De La Torre RA, Alonso N, Villaescusa A, Betancourt J, Vizoso A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. *J Ethnopharmacol.* 1996;52(3):123–7.
109. Vizoso Parra A, Ramos Ruíz A, Villaescusa González A, Décalo Michelena, M Betancourt Badell J. Evaluación del efecto genotóxico en extractos fluidos de *Plantago lanceolata* L. (Llantén menor) y *Matricaria recutita* L. (Manzanilla). *Rev Cuba Plantas Med.* 2000;5(2):59–63.
110. Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, Yeşilada E, Çevik C. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *J Ethnopharmacol.* 2000;73(1–2):121–9.
111. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Casarini M. Detection of allergens in plantain (*Plantago lanceolata*) pollen. *Allergy.* 2000;55(11):1059–62.
112. Calabozo B, Duffort O, Carpizo JA, Barber D, Polo F. Monoclonal antibodies against the major allergen of *Plantago lanceolata* pollen, Pla 1 1: affinity chromatography purification of the allergen and development of an ELISA method for Pla 1 1 measurement. *Allergy.* 2001;56(5):429–35.
113. Meyer SLF, Zasada IA, Roberts DP, Vinyard BT, Lakshman DK, Lee JK, et al. *Plantago lanceolata* and *Plantago rugelii* Extracts are Toxic to *Meloidogyne incognita* but not to Certain Microbes. *J Nematol.* 2006;38(3):333–8.
114. Herold A, Cremer L, Calugaru A, Tamas V, Ionescu F, Manea S, et al. Antioxidant properties of some hydroalcoholic plant extracts with antiinflammatory activity. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2003;62(3–4):217–27.
115. Gálvez M, Martín-Cordero C, Houghton P., Ayuso M. Antioxidant activity of metanol extracts obtained from *Plantago* species. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):1927–33.
116. Ebringerová A, Kardosová A, Hromádková Z, Hribalová V. Mitogenic and

- comitogenic activities of polysaccharides from some. Eur herbaceous plants *Fitoter.* 2003;74(1-2):52-61.
117. Kozzan E, Küpeli E, Yesilada E. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *J Ethnopharmacol.* 2006;108(2):211-6.
 118. Fleer H, Verspohl EJ. Antispasmodic activity of an extract from *Plantago lanceolata* L. and some isolated compounds. *Phytomedicine.* 2007;14(6):409-15.
 119. Melese E, Asres K, Asad M, Engidawork E. Evaluation of the antipeptic ulcer activity of the leaf extract of *Plantago lanceolata* L. in rodents. *Phytother Res.* 2011;25(8):1174-80.
 120. Reza Farahpour, M. Histological evaluation of *Plantago lanceolata* L. extract in accelerating wound healing. *J Med Plants Res.* 2012;6(34):4844-7.
 121. Essam F. Al-Jumaily* HAA-R and RHR. Extraction and Purification of Tannins From *Plantago Lanceolata* L. and Assessment Their Antibacterial Activity on Pathogenesis of Enteropathogenic E.Coli in Vitro and in Vivo. *DAMA Int.* 2012;1(1):17-21.
 122. Yoshida T, Rikimaru K, Sakai M, Nishibe S, Fujikawa T, Tamura Y. *Plantago lanceolata* L. leaves prevent obesity in C57BL/6 J mice fed a high-fat diet. *Nat Prod Res.* 2013;27(11):982-7.
 123. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos ARS, Filho VC, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phyther Res.* 2000;14(6):401-18.
 124. Campo G, Marchesini J, Bristot L, Monti M, Gambetti S, Pavasini R, et al. The in vitro effects of verbascoside on human platelet aggregation. *J Thromb Thrombolysis.* 2012;34(3):318-25.
 125. Huang DF, Tang YF, Nie SP, Wan Y, Xie MY, Xie XM. Effect of phenylethanoid glycosides and polysaccharides from the seed of *Plantago asiatica* L. on the maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells. *Eur J Pharmacol.* 2009;620(1-3):105-11.
 126. Isacchi B, Iacopi R, Bergonzi MC, Ghelardini C, Galeotti N, Norcini M, et al. Antihyperalgesic activity of verbascoside in two models of neuropathic pain. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(4):594-601.

127. Esposito E, Dal Toso R, Pressi G, Bramanti P, Meli R, Cuzzocrea S. Protective effect of verbascoside in activated C6 glioma cells: Possible molecular mechanisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2010;381(1):93–105.
128. Ohno T, Inoue M, Ogihara Y, Saracoglu I. Antimetastatic activity of acteoside, a phenylethanoid glycoside. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(5):666–8.
129. Martínez-Meza S, Bautista-Ávila M, Olvera-Hernández G, De la O-Arciniega M, Sánchez-Roldán M. Evaluación de la toxicidad aguda de acteosido aislado de la especie *Leucophyllum frutescens* en ratas Wistar. *Rev Latinoam Química.* 2016;44:182.
130. Zeb A, Ahmad S, Ullah F, Ayaz M, Sadiq A. Anti-nociceptive activity of ethnomedicinally important analgesic plant *Isodon rugosus* wall. ex Benth: Mechanistic study and identifications of bioactive compounds. *Front Pharmacol.* 2016;7(JUL):1–10.
131. Khatun A, Imam M, Rana M. Antinociceptive effect of methanol extract of leaves of *Persicaria hydropiper* in mice. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15(1):63.
132. de Santana Souza MT, Almeida JRG da S, de Souza Araujo AA, Duarte MC, Gelain DP, Moreira JCF, et al. Structure-activity relationship of terpenes with anti-inflammatory profile - A systematic review. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2014;115(3):244–56.
133. Villarejo, Mario; Murillo, Jose R; Alvarado H. FARMACOLOGÍA DE LOS AGONISTAS Y ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES OPIOIDES Dr. Mario Villarejo-Díaz,* Dr. José Ramón Murillo-Zaragoza, † Dr. Hilario Alvarado-Hernández ‡. *Invest Clin.* 2000;1:32.
134. Luo Z. Assessment of Acute Thermal Nociception in Laboratory Animals. En: Allen JW, Yaksh TL, editores. *Pain Research.* 2004. p. 011–24.
135. Cheriyan B, Kadhiervelu P, Nadipelly J, Shanmugasundaram J, Sayeli V, Subramanian V. Anti-nociceptive effect of 7-methoxy Coumarin from *Eupatorium Triplinerve* vahl (Asteraceae). *Pharmacogn Mag.* 2017;13(49):81–4.
136. Tundis R, Loizzo MR, Menichini F, Statti G a, Menichini F. Biological and pharmacological activities of iridoids: recent developments. *Mini Rev Med Chem.* 2008;8(4):399–420.

137. Korkina LG. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cell Mol Biol.* 2007;53(1):15–25.
138. Agrawal A. Pharmacological activities of flavonoids: a review. *Int J Pharm Sci* 2011;4(2):1394–8.
139. Rojas S, Acevedo L, Macías M, Toscano RA, Bye R, Timmermann B, et al. Calmodulin inhibitors from *Leucophyllum ambiguum*. *J Nat Prod.* 2003;66(2):221–4.
140. Madriaga-Mazón A, González-Andrade M, Mata R. Calmodulina: promiscuidad bioquímica y sus bondades. Vol. XL, Mensaje Bioquímico. 2016.
141. Menéndez A, Hidalgo-Balsera A, Baamonde-Arbaíza A. Efecto de la administración intratecal de dos inhibidores de calmodulina (W-7 y calmidazolium) en tres tests de analgesia. Vol. 7, Ultrasonics. Asturias España; 2008. p. 558–61.
142. Zhang L, Demain AL. Natural products: Drug discovery and therapeutic medicine. *Natural Products: Drug Discovery and Therapeutic Medicine.* 2005. 1-382 p.
143. Zhang P, Tang Y, Li N-G, Zhu Y, Duan J-A. Bioactivity and chemical synthesis of caffeic acid phenethyl ester and its derivatives. *Molecules.* 2014;19(10):16458–76.
144. Borges F, Roleira F, Milhazes N, Santana L, Uriarte E. Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity. Vol. 12, *Current Medicinal Chemistry.* 2005. 887-916 p.
145. Iqbal K, Khan A, Ali Khan Khattak MM. Biological Significance of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Human Health - A Review. *Pakistan J Nutr.* 2004;3(1):5–13.
146. Gálvez M, Martín-Cordero C, López-Lázaro M, Cortés F, Ayuso MJ. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. *J Ethnopharmacol.* 2003;88(2–3):125–30.
147. López-Lázaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem.* 2009;9(1):31–59.
148. Beara IN, Lesjak MM, Orčić DZ, Simin ND, Četojević-Simin DD, Božin BN, et al. Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *LWT - Food Sci Technol.* 2012;47(1):64–70.
149. Mao Q, Shi L, Wang Z-G, Luo Y-H, Wang Y-Y, Li X, et al. Chemical profiles and pharmacological activities of Chang-Kang-Fang, a multi-herb Chinese medicinal

- formula, for treating irritable bowel syndrome. *J Ethnopharmacol.* 2017;201:123–35.
150. Schlauer J, Budzianowski J, Kuku??czanka K, Ratajczak L. Acteoside and related phenylethanoid glycosides in *Byblis liniflora* Salisb. plants propagated in vitro and its systematic significance. *Acta Soc Bot Pol.* 2004;73(1):9–15.
151. Wiesner J. Assessment report on *Plantago lanceolata* L., folium. Eur Med Agency. 2012;2009(November):1–24.
152. Amin B, Poureshagh E, Hosseinzadeh H. The Effect of Verbascoside in Neuropathic Pain Induced by Chronic Constriction Injury in Rats. *Phyther Res.* 2016;30(1):128–35.

XII ANEXOS

12.1. Formatos

12.1.1. Formato para recolección de datos en el modelo Hot Plate

Evaluación antinociceptiva de _____ de la especie: _____, en el modelo de dolor de Hot Plate.

Dosis a administrar: _____ Vehículo: Tween 80 al 1% Control positivo: Tramadol Fecha: _____

No. (marcaje de ratón)	Peso (gramos)	Dosis (Anotar qué se le administró y su dosis)	Hora cero (Anotar la hora de admón.)	Pasados 15 min (aplicar estímulo) tiempo latencia (seg):	30" Hora:	60" Hora:	90" Hora:	120" Hora:	Total
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
Observaciones									

12.1.2. Formato para recolección de datos en el modelo Writhing

Evaluación antinociceptiva de _____ de la especie: _____, en el modelo de dolor de **Writhing**.

Fecha: _____ Dosis a administrar: _____ - Vehículo: Tween 80 al 1 % Control positivo: Indometacina

No. De Ratón	Peso (gr)	Hora cero:	0-5 minutos	5-10 minutos	10-15 min.	15-20 min.	20-25 min.	25-30 min.	Total
01									
02									
03									
04									
05									
06									
07									
OBSERVACIONES									

12.2. Análisis estadístico en GraphPad Prism v.5

12.2.1. Análisis estadístico de los extractos etanólicos modelo Writhing

Table Analyzed	ABC extractos writhing				
Repeated Measures ANOVA					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	4				
F	40.2				
R squared	0.870				
Was the pairing significantly effective?					
R squared	0.0690				
F	1.71				
P value	0.1754				
P value summary	ns				
Is there significant matching? (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	1020000	3	341000		
Individual (between rows)	87200	8	14500		
Residual (random)	153000	18	8480		
Total	1260000	27			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs L frutescens	395	11.4	Yes	***	256 to 535
Veh vs P lanceolata	476	13.7	Yes	***	337 to 615
Veh vs Indo	438	12.6	Yes	***	299 to 577
L frutescens vs P lanceolata	80.7	2.32	No	ns	-58.4 to 220
L frutescens vs Indo	42.5	1.22	No	ns	-96.8 to 182
P lanceolata vs Indo	-38.2	1.10	No	ns	-177 to 101

12.2.2. Análisis estadístico de las fracciones de L. frutescens modelo Writhing

One-way analysis of variance					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	5				
F	18.1				
R squared	0.707				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	2.84				
P value	0.5846				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	771000	4	193000		
Residual (within columns)	319000	30	10600		
Total	1090000	34			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs F Ac Lf	348	8.93	Yes	***	188 to 508
Veh vs F AcOEt Lf	345	8.86	Yes	***	185 to 505
Veh vs F CHCl3 L. f	363	9.30	Yes	***	203 to 522
Veh vs Indo	410	10.5	Yes	***	250 to 570
F Ac Lf vs F AcOEt Lf	-2.86	0.0733	No	ns	-163 to 157
F Ac Lf vs F CHCl3 L. f	14.3	0.367	No	ns	-146 to 174
F Ac Lf vs Indo	61.8	1.59	No	ns	-98.1 to 222
F AcOEt Lf vs F CHCl3 L. f	17.1	0.440	No	ns	-143 to 177
F AcOEt Lf vs Indo	84.6	1.66	No	ns	-95.2 to 225
F CHCl3 L. f vs Indo	47.5	1.22	No	ns	-112 to 207

12.2.3. Análisis estadístico de las fracciones de *P. lanceolata* modelo Writhing

P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	5				
F	17.6				
R squared	0.701				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	7.49				
P value	0.1119				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	768000	4	192000		
Residual (within columns)	328000	30	10900		
Total	1100000	34			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs FAc P lan	359	9.10	Yes	***	197 to 521
Veh vs FAcOEt P lan	269	6.81	Yes	***	107 to 431
Veh vs F CHCl3 P lan	149	3.78	No	ns	-12.7 to 311
Veh vs Indo	410	10.4	Yes	***	248 to 572
FAc P lan vs FAcOEt P lan	-90.4	2.29	No	ns	-252 to 71.7
FAc P lan vs F CHCl3 P lan	-210	5.32	Yes	**	-372 to -48.0
FAc P lan vs Indo	50.7	1.28	No	ns	-111 to 213
FAcOEt P lan vs F CHCl3 P lan	-120	3.03	No	ns	-282 to 42.4
FAcOEt P lan vs Indo	141	3.57	No	ns	-20.9 to 303
F CHCl3 P lan vs Indo	261	6.60	Yes	***	98.7 to 423

12.2.4. Análisis estadístico de Acteósido en modelo Writhing

Table Analyzed		ABC Compuesto Writhing			
One-way analysis of variance					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	3				
F	17.8				
R squared	0.665				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	2.70				
P value	0.2599				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	662000	2	331000		
Residual (within columns)	334000	18	18500		
Total	996000	20			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs ACT	331	6.42	Yes	**	110 to 551
Veh vs Indo	410	7.96	Yes	***	190 to 630
Veh vs Column D	613	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Veh vs Column E	613	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
ACT vs Indo	79.3	1.54	No	ns	-141 to 300
ACT vs Column D	282	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
ACT vs Column E	282	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Indo vs Column D	203	0.000	No	ns	0.000 to 0.000

12.2.5. Análisis estadístico de los extractos etanólicos en el modelo Hot plate

Table Analyzed	ABC extractos Hot plate				
One-way analysis of variance					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	4				
F	16.7				
R squared	0.676				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	2.89				
P value	0.4083				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	85300	3	28400		
Residual (within columns)	40800	24	1700		
Total	126000	27			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs Extr L frut	-72.4	4.65	Yes	*	-137 to -7.49
Veh vs Extr P. lan	-105	6.77	Yes	***	-170 to -40.5
Veh vs Trama	-151	9.71	Yes	***	-216 to -86.5
Veh vs Column E	175	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Extr L frut vs Extr P. lan	-33.0	2.12	No	ns	-98.0 to 31.9
Extr L frut vs Trama	-79.0	5.07	Yes	*	-144 to -14.0
Extr L frut vs Column E	248	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Extr P. lan vs Trama	-45.9	2.95	No	ns	-111 to 19.0

12.2.6. Análisis estadístico de las fracciones de *L. frutescens* en el modelo Hot plate

Table Analyzed	ABC Frac L frutescens Hot plate				
One-way analysis of variance					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	5				
F	11.0				
R squared	0.594				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	13.5				
P value	0.0089				
P value summary	**				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	115000	4	28700		
Residual (within columns)	78300	30	2610		
Total	193000	34			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs F Ac L f	-155	8.03	Yes	***	-234 to -75.8
Veh vs F AcOEt L f	-128	6.62	Yes	***	-207 to -48.5
Veh vs F CHCl3 L. f	-125	6.50	Yes	***	-205 to -46.3
Veh vs Tram	-151	7.94	Yes	***	-231 to -72.2
F Ac L f vs F AcOEt L f	27.3	1.41	No	ns	-51.9 to 107
F Ac L f vs F CHCl3 L. f	29.8	1.53	No	ns	-49.6 to 109
F Ac L f vs Tram	3.83	0.188	No	ns	-75.6 to 82.8
F AcOEt L f vs F CHCl3 L. f	2.25	0.117	No	ns	-76.9 to 81.4
F AcOEt L f vs Tram	-23.7	1.23	No	ns	-102 to 55.5

12.2.7. Análisis estadístico de las fracciones de *P. lanceolata* en el modelo Hot plate

Table Analyzed	ABC Frac P lanceolata Hot plate				
One-way analysis of variance					
P value	0.0002				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	5				
F	7.83				
R squared	0.511				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	5.28				
P value	0.2593				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	89600	4	22400		
Residual (within columns)	85800	30	2860		
Total	175000	34			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs Ao P.lan	-115	5.70	Yes	**	-198 to -32.3
Veh vs FAoEt P.lan	-99.0	4.90	Yes	*	-182 to -16.1
Veh vs FCHCl3 P.lan	-74.9	3.70	No	ns	-158 to 8.08
Veh vs Tram	-151	7.49	Yes	***	-234 to -68.5
Ao P.lan vs FAoEt P.lan	16.2	0.802	No	ns	-66.7 to 99.2
Ao P.lan vs FCHCl3 P.lan	40.4	2.00	No	ns	-42.5 to 123
Ao P.lan vs Tram	-38.1	1.79	No	ns	-119 to 46.8
FAoEt P.lan vs FCHCl3 P.lan	24.2	1.20	No	ns	-58.8 to 107
FAoEt P.lan vs Tram	-57.4	2.69	No	ns	-126 to 30.6

12.2.8. Análisis estadístico de Acteósido en el modelo Hot plate

Table Analyzed	ABC Compuesto Hot plate				
One-way analysis of variance					
P value	< 0.0001				
P value summary	***				
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes				
Number of groups	3				
F	18.4				
R squared	0.871				
Bartlett's test for equal variances					
Bartlett's statistic (corrected)	3.09				
P value	0.2135				
P value summary	ns				
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No				
ANOVA Table					
	SS	df	MS		
Treatment (between columns)	80400	2	40200		
Residual (within columns)	39300	18	2180		
Total	120000	20			
Tukey's Multiple Comparison Test					
	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
Veh vs ACT	-81.0	4.58	Yes	*	-157 to -5.44
Veh vs Tram	-151	8.57	Yes	***	-227 to -75.8
Veh vs Column D	175	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Veh vs Column E	175	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
ACT vs Tram	-70.4	3.98	No	ns	-148 to 5.17
ACT vs Column D	256	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
ACT vs Column E	256	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Tram vs Column D	327	0.000	No	ns	0.000 to 0.000
Tram vs Column E	327	0.000	No	ns	0.000 to 0.000

12.3. Materiales y reactivos utilizados en el modelo Hot plate

Extracto etanólico de *Leucophyllum frutescens*

Extracto etanólico de *Plantago lanceolata*

Fracción acuosa de *Leucophyllum frutescens*

Fracción acuosa de *Plantago lanceolata*

Fracción clorofórmica de *Leucophyllum frutescens*

Fracción clorofórmica de *Plantago lanceolata*

Fracción de acetato de etilo de *Leucophyllum frutescens*

Fracción de acetato de etilo de *Plantago lanceolata*

Compuesto mayoritario de las dos especies

Solución de Tween 80 al 1% (polisorbato 80, monooleato de sorbitán polioxietilénico 80)

Tramadol solución 100 mg/1mL “Tradol” Laboratorio Grünenthal caja con frasco y dosificador con 30 mL.

12.3.1. Equipo utilizado en el modelo Hot plate

- 1 Balanza analítica Marca Adventurer
- 1 Balanza granataria digital
- 1 Hot/Cold Plate, marca Ugo Basile® modelo 35100 (2-66 °C) Hecho en Italia
- 1 Micropipeta 20-200 µL marca Eppendorf
- 1 Agitador Vortex Genie II. Marca: Scientific Industries, modelo: G560

12.4. Materiales y reactivos utilizados en el modelo Writhing

Ácido acético en solución al 0.6 % v/v (Sigma-Aldrich Chemical Co., USA)

Extracto etanólico de *Leucophyllum frutescens*

Extracto etanólico de *Plantago lanceolata*

Fracción acuosa de *Leucophyllum frutescens*

Fracción acuosa de *Plantago lanceolata*

Fracción clorofórmica de *Leucophyllum frutescens*

Fracción clorofórmica de *Plantago lanceolata*

Fracción de acetato de etilo de *Leucophyllum frutescens*

Fracción de acetato de etilo de *Plantago lanceolata*

Compuesto mayoritario de las dos especies

Solución de Tween 80 al 1% (polisorbato 80 N.F., monooleato de sorbitán polioxietilénico 80)

Solución salina 0.9% NaCl Marca PiSA

Solución de Indometacina 10mg / kg Sigma Aldrich #I8282-5G

12.4.1. Equipo utilizado en el modelo Writhing

- 1 Balanza analítica Marca Adventurer
- 1 Balanza granataria digital
- 1 Micropipeta 20-200 μ L marca Eppendorf
- 1 Agitador Vortex Genie II. Marca: Scientific Industries, modelo: G560
- 1 Cronómetro modelo 308 marca LABOR

XII GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aferente	“Que lleva”
Agonista	Molécula que tiene características fisicoquímicas y estereoquímica que confieren actividad por un receptor ocasionando un efecto biológico
Alodinia	Dolor debido a un estímulo que normalmente no provoca dolor
Antagonista	Tiene actividad por el receptor pero no lo activan, no se tiene el efecto biológico
Antinociceptiva	Cualquier sustancia que inhibe la nocicepción o sensación del dolor.
Ciclooxigenasa	Enzima que permite al organismo producir prostaglandinas a partir del ácido araquidónico
Clastogénico	Son agentes físicos o químicos capaces de inducir roturas cromosómicas
Disestesias	Perversión de la sensibilidad que se observa especialmente en el histerismo
Distensión	Causar una tensión violenta en un tejido
Dolor	Sensación molesta y aflictiva de una parte del cuerpo por causa interior o exterior
Fásico	Que consta de fases o de duración corta
Ganglio	Centro nervioso constituido por una masa de neuronas intercalada en el trayecto de los nervios. Son los relevos de información.
Glutamato	Neurotransmisor excitatorio de la corteza cerebral humana.
Hiperalgesia	Respuesta aumentada a un estímulo que es normalmente doloroso
Hiperestesia	Sensibilidad excesiva y dolorosa.
Histerismo	Estado pasajero de excitación nerviosa producido a consecuencia de una situación anómala.
Macrófago	Son células del sistema inmunitario que se localizan en los tejidos.
Mastocito	Son células del tejido conjuntivo. Se originan en las células madre de la médula ósea, actuando en la mediación de procesos inflamatorios y alérgicos.
Mielina	Sustancia que envuelve y protege los axones de ciertas células nerviosas y cuya función principal es la de aumentar la velocidad de transmisión del impulso nervioso.
Mordaz	Que corroe o tiene actividad corrosiva.
Neutrófilo	Son leucocitos de tipo granulocito también denominados polimorfonucleares (PMN). Se encuentran en el torrente sanguíneo.
Parestesia	Sensación o conjunto de sensaciones anormales, y especialmente hormigueo, adormecimiento o ardor que experimentan en la piel ciertos enfermos del sistema nervioso o circulatorio.
Patológica	Que denota enfermedad
Potencial eléctrico o de acción	Es el intercambio de iones a través de la membrana celular.
Receptor	Molécula de una célula que responden al ligando o estímulo.
Sensorial	Pertenece o relativo a la sensibilidad o a los órganos de los sentidos.

Sinapsis	Conexión entre el axón de una neurona y la dendrita de otra cercana mediante neurotransmisores.
Somatogénico	Que tiene origen en neuronas sensitivas y que se expresa de manera clara y visible. Fácil localización.
Tisular	Perteneiente o relativo a los tejidos de los organismos.
Tónico	Un tipo cronológico que involucra la duración del estímulo nocivo, se refiere a un estímulo agudo (una sola ocasión)
TRPV1, receptor	El receptor hace referencia al fenotipo de las moscas <i>D. melanogaster</i> donde se identificó al primer miembro de esta familia de canales, y Vanilloid se refiere a la familia de moléculas vainilloides, a la cual pertenecen la capsaicina y la vainillina, responsable del sabor y olor de la vainilla
Umbral	Valor mínimo de una magnitud a partir del cual se produce un efecto determinado.

