

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**TRABAJO DE GRADO:**

**“Actividad analgésica y toxicidad subaguda del extracto acuoso de *Persea caerulea* (Lauraceae)”.**

**PRESENTADO POR:**

**REINA JUDITH FLORES PÉREZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:**

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, 28 DE OCTUBRE DE 2022.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**TRABAJO DE GRADO:**

**“Actividad analgésica y toxicidad subaguda del extracto acuoso de *Persea caerulea* (Lauraceae)”.**

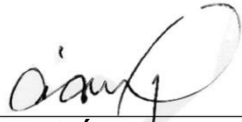
**PRESENTADO POR:**

REINA JUDITH FLORES PÉREZ

**PARA OPTAR AL GRADO DE:**

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

**ASESORES**

v.B.   
M.Sc. MIGUEL ÁNGEL MORENO

INTERNO

  
LIC. JOSÉ GUILLERMO MEJÍA

EXTERNO

**CIUDAD UNIVERSITARIA, 28 DE OCTUBRE DE 2022.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**TRABAJO DE GRADO:**

**“Actividad analgésica y toxicidad subaguda del extracto acuoso de *Persea caerulea* (Lauraceae)”.**

**PRESENTADO POR:**

**REINA JUDITH FLORES PÉREZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:**

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

**LIC. ROBERTO AMADO DÍAZ**

**INTERNO**

**TRIBUNAL EVALUADOR**

**M.Sc. GABRIEL JULIAN CERON**

**EXTERNO**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, 28 DE OCTUBRE DE 2022.**

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

**RECTOR**

M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

DR. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ

**VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA

**SECRETARIO GENERAL**

ING. FRANCISCO ALARCÓN

**FISCAL**

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

**DECANO**

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA

**VICEDECANA**

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

**DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA**

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERÓN

## **AGRADECIMIENTOS**

Al amor de amores doy gracias infinitas por permitirme llegar hasta este momento de mi vida. A mi madre celestial, por acogerme en su regazo y guiarme en el camino. De manera especial a los tesoros que Dios me ha confiado, mis padres y hermanas, quienes siempre están dándome su apoyo en cada proyecto que emprendo. A mi querida abuelita, que siempre estuvo buscando mí bien.

Agradezco a mis asesores por su tiempo, paciencia, apoyo y orientación que ambos me fueron brindando en el transcurso del desarrollo de la tesis, al Lic. Miguel Moreno y Lic. José Mejía. Gracias por permitirme aventurar en la investigación científica. A cada uno de los estudiantes que se encontraban en servicio social en el Laboratorio de Experimentación Animal: Erika Portillo, Henry Stanley, Wendy Campos y Cindy Ramírez, quienes siempre estuvieron atentos a ayudarme, tanto en el cuidado de los animales a ocupar para las pruebas como en el desarrollo de éstas. A Don Carlos, trabajador del Centro de Investigación en Salud, porque en muchas ocasiones me brindó su ayuda para acceder al laboratorio y por estar pendiente de dejar los animales en ayuno. Monserrath Coto, gracias por tu ayuda y orientación en la tesis. A mi gran amigo de carrera, Carlos Amaya que en todo momento está dispuesto a brindarme su mano amiga, gracias por tu compañía.

A todas las personas que me brindaron su ayuda en el Laboratorio de Productos Naturales de Química y Farmacia, de forma particular al Dr. Marvin Núñez y el Lic. Ulises, muchas gracias.

Gracias a todos los que de una u otra forma me acompañaron en el transcurso del desarrollo de la tesis, a amigos que estuvieron motivándome. En especial, a mi amigo y compañero de batallas Enrique Escobar, quien desde el inicio me apoyó y estuvo dándome ánimos en momentos de incertidumbre.

# INDICE DE CONTENIDO

<b>I- RESUMEN</b>	<b>10</b>
<b>II- INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>III- MARCO DE REFERENCIA</b>	<b>13</b>
<b>3.1- ANTECEDENTES</b>	<b>13</b>
3.1.1- LAURÁCEAS EN LA ANALGESIA COMO MEDICINA TRADICIONAL.	13
3.1.2- EL GÉNERO <i>PERSEA</i> COMO ANALGÉSICO.	13
3.1.3- GENERALIDADES DEL DOLOR Y TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	14
3.1.3.1- Analgésico	15
3.1.3.2- Analgésicos opiáceos.	15
3.1.3.3- Analgésicos adyuvantes.	19
3.1.3.4- Analgésicos no opiáceos: Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).	19
3.1.4- INDOMETACINA.	22
3.1.5- USO DE MEDICAMENTOS EN EL SALVADOR.	23
<b>3.2- FUNDAMENTO TEÓRICO</b>	<b>24</b>
3.2.1- PLANTAS MEDICINALES	24
3.2.2- CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA LAURACEAE.	24
3.2.3- GENERALIDADES Y DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO <i>PERSEA</i> .	24
3.2.4- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y TAXONOMÍA DE <i>PERSEA CAERULEA</i>	25
3.2.4.1- Clasificación sistemática	25
3.2.4.2- Hábitat y distribución	26
3.2.4.3- Características morfológicas de <i>Persea caerulea</i> (Ruiz & Pav) Mez	26
3.2.5- PRUEBAS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA.	28
3.2.6- ANÁLISIS DE VARIANZA (ANDEVA) Y PRUEBA POST-HOC	30
<b>IV- METODOLOGÍA</b>	<b>32</b>

<b>4.1- UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.</b>	<b>32</b>
<b>4.2- RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.</b>	<b>32</b>
<b>4.3- PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.</b>	<b>33</b>
<b>4.4- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.</b>	<b>34</b>
<b>4.5- TOXICIDAD SUBAGUDA ORAL DE 14 DÍAS.</b>	<b>35</b>
<b>4.6- PRUEBA DE ÁCIDO ACÉTICO.</b>	<b>37</b>
<b>4.7- ANÁLISIS DE ESTADÍSTICOS.</b>	<b>39</b>
<b><u>V- RESULTADOS</u></b>	<b><u>40</u></b>
<b>5.1- TOXICIDAD SUBAGUDA CONTINUA DE 14 DÍAS.</b>	<b>40</b>
<b>5.2- PRUEBA DE ÁCIDO ACÉTICO.</b>	<b>42</b>
<b><u>VI- DISCUSIÓN</u></b>	<b><u>45</u></b>
<b><u>VII-CONCLUSIONES</u></b>	<b><u>49</u></b>
<b><u>VIII- RECOMENDACIONES</u></b>	<b><u>50</u></b>
<b><u>IX- REFERENCIAS</u></b>	<b><u>51</u></b>
<b><u>X- ANEXOS</u></b>	<b><u>57</u></b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Representación de los tipos de receptores opioides, localización y efectos .....	16
<b>Tabla 2</b> Marcado individual de ratones con ácido pícrico para su identificación en las pruebas.....	34
<b>Tabla 3</b> Parámetros de evaluación de toxicidad en animales de experimentación	36
<b>Tabla 4</b> Chequeo clínico de animales de experimentación en estado moribundo	37
<b>Tabla 5</b> Valores promedio de peso corporal (g) en grupos experimentales con dosis continua del extracto acuoso de <i>Persea caerulea</i> y disminución total .....	40
<b>Tabla 6</b> Valores promedio de peso de órganos en grupos experimentales con dosis continua del extracto acuoso de <i>Persea caerulea</i> .....	41
<b>Tabla 7</b> Porcentaje de consumo de alimento por semana y total (Ct%) en grupos experimentales .....	42
<b>Tabla 8</b> Valores promedios y porcentaje de inhibición del dolor en la prueba de ácido acético.....	42
<b>Tabla 9</b> Comparaciones de grupos experimentales de la prueba de ácido acético. HSD Tukey.....	43



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Escala analgésica según la OMS para el tratamiento del dolor, que representa la forma en que debe ser tratado el dolor.....	14
<b>Figura 2</b> Estructura química de la Indometacina. ....	22
<b>Figura 3</b> Morfología de <i>Persea caerulea</i> .....	26
<b>Figura 4</b> Morfología de <i>Persea caerulea</i> . 4a. Corteza externa de color blanquecino y en la parte interna rosa. 4b. Disposición de las flores en panículas, con anteras café-amarillento. 4c. Infrutescencias múltiples, frutos tipo drupas.. ....	27
<b>Figura 5</b> Ubicación geográfica del sitio de colecta.....	32
<b>Figura 6</b> Pesado del extracto en seco y dilución de este a una concentración de 100 mg/kg en un sonificador .....	33
<b>Figura 7</b> Toma de peso corporal antes de la dosificación, según los días establecidos .....	36
<b>Figura 8</b> Distribución de dosis administradas en la prueba de ácido acético, por grupo de experimentación .....	38
<b>Figura 9</b> Canulación por vía intragástrica del extracto acuoso de <i>Persea caerulea</i> .....	38
<b>Figura 10</b> Prueba de Tukey en ácido acético. ....	44

## I- RESUMEN

El estudio consistió en evaluar la toxicidad subaguda oral continua de 14 días a dosis repetidas y la actividad analgésica de *Persea caerulea* (Lauraceae). La investigación fue ejecutada en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). Los animales fueron cuidados de acuerdo al procedimiento normalizado de trabajo (PROC-NT-02) del Laboratorio de Experimentación Animal (LEA), utilizando 40 ratones machos provenientes de la cepa National Institute of Health (NIH), con un intervalo de peso de 22 a 28g. En todos los grupos las sustancias fueron administradas con una cánula intragástrica.

La prueba de toxicidad subaguda oral se desarrolló de acuerdo con lo establecido por la OECD (2001), estuvo conformada por diez ratones, dividido en dos grupos: control y tratamiento, con cinco cada uno. Diariamente se administró el extracto acuoso de *P. caerulea* a dosis de 500mg/kg de peso corporal, llevando a cabo las respectivas observaciones clínicas. Los resultados obtenidos en peso corporal y de órganos no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, en la evaluación macroscópica el hígado, estómago y pulmones presentaron palidez, como un posible daño ocasionado por el extracto.

La actividad analgésica fue evaluada mediante la prueba de ácido acético, con 30 ratones, distribuidos en tres grupos: dos grupos controles (negativo y positivo) y un grupo experimental tratado con extracto acuoso de *P. caerulea* a 100mg/kg peso corporal. Al transcurrir una hora de la canulación, los grupos fueron inyectados con ácido acético al 1% por vía intraperitoneal, registrando la cantidad de contorsiones abdominales durante los siguientes treinta minutos; la reducción de éstas confirma dicha actividad biológica. Los resultados indican que tanto la indometacina (control negativo) como el extracto acuoso redujeron significativamente las contorsiones abdominales con relación al grupo control negativo, evidenciando la actividad analgésica de *Persea caerulea*.

## II- INTRODUCCIÓN

El dolor ha estado irremisiblemente unido al hombre en todas las épocas y ha sido sin duda alguna, un importante impulsor para el desarrollo de las ciencias de la salud. Tan antiguo es su tratamiento que en “La Odisea”, Homero describe acerca de un medicamento que *“tomado con el vino producía el absoluto olvido de las penas”*. Plinio el Viejo autor de Historia natural, especuló que esa droga debía ser la “borraja” (*Borago officinalis*), planta medicinal con larga trayectoria en estos usos (Fernández et al., 1999; Cajaraville et al., 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2004, clasifica el dolor como agudo y crónico. El dolor agudo suele ser de corta duración y de causa identificable (enfermedad, traumatismo). En cambio, el dolor crónico es de larga duración, por lo general se asocia con cáncer. A nivel mundial los medicamentos más usados para el control del dolor de leve a moderado son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Estos medicamentos “son un conjunto heterogéneo de compuestos químicos generalmente no relacionados entre sí, que comparten acciones terapéuticas para el control en diverso grado del dolor, la inflamación y la fiebre” (Prieto, 2007).

Las personas que ingieren a elevadas dosis estos fármacos presentan efectos adversos medicamentosos (EAM) principalmente gastrointestinales (GI), renales y cardiovasculares (CV); esto indica que al incrementar la dosis no habrá mejoría, sino en cambio EAM. Estos efectos adversos se relacionan con las dosis ingeridas diariamente, y pueden presentarse incluso en tratamientos menores de 15 días (Prieto, 2007; Aranguren Ruíz et al., 2016).

En El Salvador, los medicamentos que principalmente utiliza la población para automedicarse son los AINEs. Según Duran Turcios et al. (2008), el 58% de la

población que consume dichos medicamentos no conoce los efectos secundarios que producen al ser ingeridos por largos periodos de tiempo. “En los últimos años, el consumo de estos fármacos ha variado, en parte por los diferentes ensayos clínicos, que avalan la utilización de nuevas moléculas con menos efectos adversos y mejores efectos terapéuticos. Por sus efectos colaterales importantes se han retirado varios de ellos del mercado a nivel mundial” (González et al., 2002).

Las plantas medicinales y los medicamentos herbarios constituyen elementos terapéuticos ancestrales que en la actualidad aún son útiles, sobre todo en la atención primaria de salud. La familia Lauraceae posee plantas muy conocidas por sus raíces aromáticas, tallos y frutos. Su importancia radica en su valor económico como: *Laurus nobilis* (laurel), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Cinnamomum camphora* (árbol de alcanfor), *Persea americana* (aguacate) y *Sassafras sp* (sasafrás) (Simic et al., 2004; Hernández et al., 2014).

En la actualidad, existe poca investigación sobre las especies que pertenecen al género *Persea*, a excepción de *P. americana* Mill de la cual se conocen muchas de sus propiedades medicinales (Adeyemi et al., 2002; Alhhalf et al., 2018; Hurtado Fernández et al., 2018). *Persea caerulea* ha reportado estudios fitoquímicos de hojas, corteza y madera, presentando flavonoides en dichas partes. Dentro de los componentes encontrados en corteza dos de ellos son reportados en otras especies con actividad antiinflamatoria. A pesar de estar comprobada dicha actividad, muchos estudios dictan la importancia de retomar investigaciones en la misma especie, esto se debe a la variabilidad de producción de metabolitos secundarios que pueden presentar de acuerdo al lugar donde se desarrollen, influyendo los factores químicos y físicos (Álvarez Caballero, 2016; Álvarez et al., 2016). Por otra parte, de acuerdo con lo establecido por la OECD (2001) y con el objetivo de validar el uso popular de la planta, se evaluaron los efectos tóxicos del extracto acuoso de *P. caerulea*.

### III- MARCO DE REFERENCIA

#### 3.1- ANTECEDENTES

##### 3.1.1- Lauráceas en la analgesia como medicina tradicional.

El género *Cinnamomum* posee especies que son utilizadas como antiinflamatorias: *C. kotoense* y *C. osmophloeum* atribuidas a sus hojas (Kuo et al., 2005; Fang et al., 2005). También se encuentran con dicha propiedad medicinal los frutos de *Lindera erythrocarpa* (Wang et al., 2008; Senthil et al., 2010); y especies del género *Neolitsea*: en las raíces de *N. daibuensis* (Wong et al., 2011), *N. hiiranensis* por medio de sus hojas (Liou et al., 2011).

*Aniba canelilla*, planta aromática de las lauráceas, es reportada con efectos analgésicos por su componente principal (1-nitro-2-feniletano) en el aceite esencial (De Lima et al., 2009). Dentro de la familia se encuentran otras especies con función analgésica, entre ellas: *Cinnamomum camphora*, *Laurus nobilis* Linn, *Litsea japonica* y seis especies del género *Nectandra*: *N. falcifolia*, *N. coriacea*, *N. megapotamica*, *N. cuspidata*, *N. polita* y *N. amazonum* (Sayyah et al., 2003; Singh y Jawaid 2012; Koo et al., 2014; Grecco et al., 2016).

##### 3.1.2- El género *Persea* como analgésico.

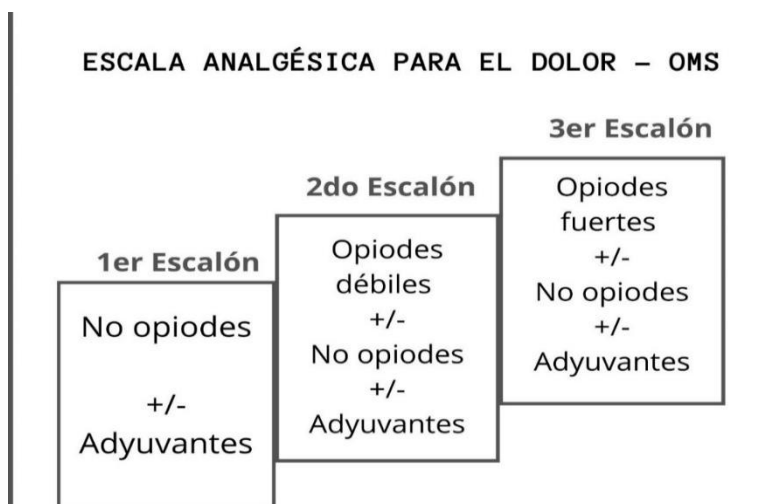
Las hojas de *Persea americana* en la medicina tradicional son utilizadas como analgésico en decocciones y a modo de infusiones (Di Stasi et al., 2002; Novais et al., 2004). Un estudio realizado por el Grupo de Investigación en Modelos Animales del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, confirma la actividad analgésica de *Persea schiedeana* (chucte) en sus hojas (Mejía et al., 2021).

### 3.1.3- Generalidades del dolor y tratamiento farmacológico.

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor definió el dolor como “una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial” (Puebla Díaz, 2005). El dolor es clasificado en dos tipos de acuerdo con su duración: dolor agudo y dolor crónico. El primero se presenta en periodos cortos de tiempo (horas), pero puede persistir por semanas o meses hasta que la enfermedad cese. El dolor crónico en cambio es persistente, continuo y de duración e intensidad suficiente como para alterar el estado general del paciente. Se considera que un dolor con duración de seis semanas o más es crónico (Gutiérrez Álvarez y Valenzuela Plata, 2007).

Para el tratamiento del dolor la OMS recomienda una estrategia de tres escalones (Figura 1); primer escalón (caso de dolor leve a moderado) analgésicos no opioides con o sin adyuvantes, segundo escalón opioides menores con o sin opioides y adyuvantes, y en el tercer escalón opioides mayores con o sin opioides y adyuvantes (Pedrajas Navas y Molino González, 2008).

**Figura 1** *Escala analgésica según la OMS para el tratamiento del dolor, que representa la forma en que debe ser tratado el dolor*



### **3.1.3.1- Analgésico**

Es cualquier procedimiento médico o paramédico que calma o elimina el dolor. Etimológicamente procede del prefijo griego a-/an- (carencia, negación), y algo de dolor. Aunque se puede usar el término para cualquier sustancia o mecanismo que reduzca el dolor, generalmente se refiere a un conjunto de fármacos, de familias químicas diferentes que calman o eliminan el dolor por diferentes mecanismos (Jerez, 2007).

Entre los fármacos usados para tratar el dolor agudo se encuentran: analgésicos no opiáceos o AINEs, analgésicos opiáceos y analgésicos adyuvantes (Gutiérrez Álvarez y Valenzuela Plata, 2007). Dentro de los analgésicos no opiáceos más usados se encuentra el paracetamol, salicilatos y AINEs (Wah Li, 2008).

### **3.1.3.2- Analgésicos opiáceos.**

Los opioides son compuestos derivados del “opio” (*Papaver somniferum*), cuyo referente es la morfina. Su mecanismo de acción está mediado por la unión de diversos receptores, principalmente los receptores mu (receptor opioide  $\mu$ ) del Sistema Nervioso Central (SNC). Se han identificado 5 clases, denominadas  $\mu$  ( $\mu_1$  y  $\mu_2$ ),  $\kappa$ ,  $\delta$ ,  $\sigma$ , y  $\epsilon$ , aunque sólo se aceptan como auténticos receptores opioides los tres primeros. Los receptores  $\mu$ ,  $\kappa$  y  $\sigma$ , son activados por los opioides exógenos y los  $\delta$  por las endorfinas. Los receptores  $\epsilon$  han sido detectados en muestras tisulares de animales (conducto deferente del ratón) y se desconoce su función y localización en el hombre, aunque se cree que están relacionados con las beta endorfinas y la respuesta al estrés y a la acupuntura. En la Tabla 1 se representan la localización, tipos y efectos de los diversos receptores, así como sus activadores opioides exógenos o endógenos (Valdivielso Serna, 1998).

**Tabla 1** Representación de los tipos de receptores opioides, localización y efectos

TIPOS	LOCALIZACIÓN	EFFECTOS	PROTOTIPO
$\mu$	Cerebro: Lámina III y IV del córtex	$\mu$ 1: Analgesia supraespinal - Indiferencia al dolor - Bienestar	Morfina
	Tálamo - S. gris periacueductal	¿Gran potencial adictivo?	Fentanilo
	Médula espinal: S. gelatinosa	$\mu$ 2: Analgesia epinal - Depresión respiratoria - ↓ reflejo tusígeno Náuseas / Vómitos - ↓ Motilidad intestinal - Espasmo Oddi Retención urinaria - Prurito - Miosis - Bradicardia Tolerancia y dependencia física	Meperidina Metadona Codeína
$\kappa$	Cerebro: Hipotálamo - Córtex	$\kappa$ 1 Analgesia espinal - Sedación - Miosis - Diuresis	Buprenorfina
	Sustancia gris periacueductal	Escaso potencial adictivo	
	Médula espinal: S. gelatinosa	$\kappa$ 2: Efecto farmacológico desconocido $\kappa$ 3: Analgesia supraespinal Disforia (cansancio - desasosiego - desorientación)	Pentazocina Nalbufina Butorfanol
$\delta$	Cerebro: Núcleo pontino - Córtex	Analgesia espinal - Euforia - Depresión respiratoria	Morfina
	Amígdala - Bulbo olfatorio	Tolerancia y dependencia física - Náuseas - Vómitos - Prurito	Fentanilo
	Sistema nervioso autónomo	Modulación de la actividad de los receptores $\mu$ Efectos autónomos (micorcirculación?)	Meperidina Endorfinas
$\sigma$	Cerebro: Cuerpo estriado Tronco cerebral Médula espinal	No analgesia - Escaso potencial adictivo Alucinaciones - Delirio - Estimulación psicomotriz Náuseas - Vómitos - Midriasis Estimulación respiratoria y vasomotora ( ↑ FC - ↑ FR - Vd )	Buprenorfina Pentazocina Nalbufina Butorfanol Ketamina



Los opioides disminuyen la percepción del estímulo doloroso determinando un estado con ausencia de dolor o un dolor muy leve. Además, modulan la sensación emocional subjetiva al dolor, y disminuyen su impacto en el individuo, creando una especie de indiferencia (“el dolor no ha desaparecido, pero me molesta menos”), y cierto grado de euforia (Valdivielso Serna, 1998).

Son considerados medicamentos muy efectivos para tratar el dolor, en los últimos años no solo han sido usados para tratar el dolor agudo, también en el tratamiento del dolor crónico no maligno, y en dolor crónico oncológico (Vásquez y Berenguel, 2011).

### **Farmacocinética de los opioides**

- Absorción y transporte:

En general se absorben bien por vía oral (v.o), aunque algunos presentan un primer paso hepático que sustrae de la circulación sistémica una porción variable, influyendo en su ulterior biodisponibilidad. Para las vías subcutáneas (s.c.) e intramuscular (i.m.) El grado de absorción depende de la circulación local. Si la circulación local está alterada por vasoconstricción periférica, hipovolemia o hipotensión, la absorción es pobre necesitando más droga para obtener un efecto dado (Valdivielso Serna, 1998).

- Vías transmucosa y transdérmica:

Sólo son posibles en los opioides con elevada liposolubilidad, elevada potencia y bajo peso molecular como el fentanilo. Vía intravenosa (i.v.): Es la que ofrece una mayor disponibilidad y es la más adecuada para el tratamiento con opioides del dolor agudo (Valdivielso Serna, 1998).

- Distribución, acceso a los receptores y redistribución:

Desde el plasma los opioides se distribuyen inicialmente por los tejidos altamente perfundidos (pulmón, corazón, cerebro, hígado y riñón). El acceso a los receptores

opioides tiene lugar durante la distribución inicial y depende de la cantidad de fármaco disponible para atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y de su capacidad para atravesar, lo que depende, en gran parte, de sus propiedades fisicoquímicas (Valdivielso Serna, 1998).

Una vez instalado en la circulación sanguínea, para que un opioide llegue a los correspondientes receptores debe atravesar la biodisponibilidad de un fármaco depende la concentración plasmática libre (no ligada a las proteínas séricas) llamada también fracción libre, y de su ionización, siendo tanto más biodisponible cuando mayor sea el porcentaje de la fracción libre en estado de no ionización (Valdivielso Serna, 1998).

Biotransformación y eliminación:

A partir del estado de equilibrio las concentraciones séricas y tisulares disminuyen en paralelo debido a los procesos de biotransformación y eliminación, definiendo esta segunda etapa por la llamada vida media de eliminación o  $T_{1/2 \beta}$ . En los opioides liposolubles (fentanilo), la administración prolongada y a altas dosis ( $> 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) condiciona la saturación de los depósitos con prolongación del efecto y/o aparición de toxicidad, ya que el nivel plasmático no disminuye debido a que la redistribución no es operativa por la saturación de los tejidos (Valdivielso Serna, 1998).

Cuando el dolor no es controlado con el uso de AINEs, se emplean los opioides para tratar el dolor de moderado a severo de diversas etiologías. Al principio se debe dosificar gradualmente con opioides de acción corta. Los opioides con acción prolongada poseen algunas ventajas para el dolor crónico (Gutiérrez Álvarez y Valenzuela Plata, 2007).

Dentro de los opioides más usados en el dolor agudo se encuentra: la morfina que es considerado el analgésico opioide estándar; la codeína indicada en dolor moderado; tramadol usado en el dolor neuropático y visceral; oxicodona con liberación inmediata; fentanilo para tratar el dolor episódico y la hidromorfona que es un derivado de la morfina (González et al., 2011).

Así como los demás analgésicos estos compuestos poseen efectos secundarios, algunos de ellos son: náuseas, estreñimiento, retención urinaria y somnolencia, cabe especificar que sus efectos adversos varían de acuerdo a cada paciente (Pedrajas Navas y Molino González, 2008).

### **3.1.3.3- Analgésicos adyuvantes.**

Estos medicamentos son usados como complemento de los AINEs y los opioides, no se deben usar por si solos en tratamientos de dolor agudo. Se ha observado que algunos incrementan el efecto de un analgésico en particular, y otros en cambio poseen la propiedad analgésica como los antidepresivos tricíclicos y la hidroxizina (Gutiérrez Álvarez y Valenzuela Plata, 2007).

Algunos de estos analgésicos son: los antidepresivos tricíclicos (amitriptilina), los anticonvulsivantes (carbamazepina, fenitoína, gabapentina, pregabalina), neurolépticos (haloperidol, clorpromazina), anestésicos locales orales, antihistamínicos, psicoestimulantes (poco utilizados en nuestro medio), benzodiacepinas (diazepam, tetracepam), calcitonina, bifosfonatos, corticoides y otros (Pedrajas Navas y Molino González, 2008).

### **3.1.3.4- Analgésicos no opiáceos: Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).**

Comúnmente conocidos como AINEs, tienen su indicación en el dolor leve a moderado de origen somático. Dentro de los que son más conocidos y utilizados se encuentra el ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, diclofenaco y naproxeno (Pedrajas Navas y Molino González, 2008).

Estos fármacos poseen tres acciones por los que se caracterizan: analgesia, antiinflamatorio y antipirético. Los AINEs poseen actividad analgésica moderada, son usados en dolores articulares, musculares, dentarios y cefaleas de diversas etiologías. La acción de estos fármacos tiene lugar a nivel periférico (Pacheco Marín, 2010). El mecanismo de acción común es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas (PG) por bloqueo de las enzimas ciclooxigenasas (COX). El bloqueo de la COX-1 se relaciona con los efectos indeseables gástricos y renales. La inhibición de la COX-2 tiene que ver con la actividad antiinflamatoria. Tienen techo analgésico, es decir, a partir de una cierta dosis no consiguen más alivio del dolor y sí más efectos secundarios (Blanco Tarrío, 2010).

El efecto farmacológico varía para cada principio activo en relación con la intensidad de la inhibición de la enzima (irreversible, competitivo- estereoespecífica, o no competitiva), la capacidad para llegar a los tejidos o con la existencia de diferentes tipos de ciclooxigenasa. El efecto analgésico se basa en el bloqueo de la producción periférica y central de PG (Valdivielso Serna, 1998).

En los AINEs la inhibición es predominantemente periférica, aunque en el caso del ácido acetilsalicílico la inhibición también es central. El comportamiento farmacocinético es muy parecido en todos, y con respecto a la edad, en los mayores de tres meses es ya similar al del adulto. Tras la administración oral se absorben rápidamente por difusión pasiva en estómago e intestino proximal. Al ser ácidos débiles mantienen un estado de ionización en el medio ácido (mucosa gástrica, orina, líquido sinovial y líquido extracelular de los tejidos inflamados), que facilita su difusión a través de las membranas biológicas (Valdivielso Serna, 1998).

La farmacocinética en los AINEs es similar para todas las edades incluidas el período neonatal, aunque algunos autores recomiendan dosis más bajas en el neonato (Valdivielso Serna, 1998).

Por vía oral el inicio del efecto es entre los 10-30 minutos, la máxima concentración sérica a los 30-90 minutos (rectal 2 horas), y la vida media de 3,5-5 horas. La velocidad de absorción depende del vaciamiento gástrico, ya que por su naturaleza ácida no se absorbe bien por la mucosa gástrica y con el estómago lleno o con drogas que retrasan el vaciamiento gástrico (meperidina o pentazocina), disminuye la tasa de absorción duodenal, sin llegar a alcanzar niveles adecuados (Valdivielso Serna, 1998).

Por vía rectal se absorbe pobre y lentamente de modo que esta vía puede considerarse como una forma de liberación lenta de paracetamol, por lo que algunos autores recomiendan intervalos entre dosis de 6 horas. El nivel terapéutico (analgésico y antipirético) está en torno a 10-30 µg/ml (11). Se liga escasamente (25%) a las proteínas séricas eliminándose por orina sin metabolizar el 3%. El resto se metaboliza en el hígado por conjugación con ácido glucorónico (60%), ácido sulfúrico (30%) y cisteína (3%), y un pequeño porcentaje mediante desacetilación formando agentes arilados tóxicos conjugados por el glutatión hepático y eliminados por la orina (Valdivielso Serna, 1998).

Los AINEs pueden causar efectos secundarios renales (a través de la reducción de prostaglandinas vasodilatadoras renales), efectos secundarios hematológicos (a través de la inhibición de la agregación plaquetaria), efectos del sistema nervioso central (a través de la inhibición de la producción central de prostaglandinas) y efectos secundarios gastrointestinales (Wah Li, 2008). También pueden precipitar una crisis de asma o causar reacciones anafilácticas (Blanco Tarrío, 2010).

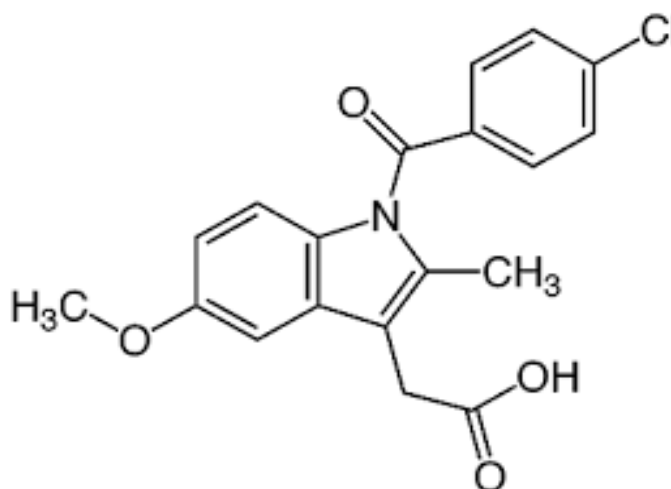
En estos fármacos no hay diferencias importantes en la eficacia analgésica. El diclofenaco está indicado en dolor traumático, dolor postoperatorio, cólicos, crisis de migraña, dolor dental u orofacial. En dosis más altas de 400 mg/kg presenta mayor actividad antiinflamatoria, pero así también son de elevados sus efectos secundarios (Blanco Tarrío, 2010).

### 3.1.4- Indometacina.

El 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il] ácido acético o comúnmente conocido como Indometacina (Figura 2), es un AINE perteneciente a la familia de derivados del ácido indolacético. Está indicado para tratar artritis, fiebre, síndromes de cefalea, dismenorrea y en el cierre del conducto arterioso permeable. Es un polvo cristalino blanco amarillento sensible a la luz, con baja solubilidad en agua e hidrocarburos, pero soluble en disolventes orgánicos como, DMSO y EtOH. Es considerado un analgésico que posee gran potencial antiinflamatorio, pero es menos prescrito por su gran cantidad de efectos adversos (Blanco Tarrío, 2010; Oliver y Evers, 2013; Hernández González, 2017).

**Figura 2** Estructura química de la Indometacina.

*Fuente: Hernández González, 2017*



De acuerdo con la Federación Europea de Sociedades Neurológicas (EFNS), para el uso de indometacina en dolores de cabeza primario no se recomienda para tratamiento de primera línea agudo o en dolor de cabeza tensional y migraña. Según la clasificación “otros dolores de cabeza primarios” este analgésico es usado como tratamiento de primera opción (Oliver y Evers, 2013).

La indometacina tiene una biodisponibilidad del 98%, con respecto a la unión a proteínas plasmáticas un 90% y es metabolizada por el hígado. El tiempo de vida media está entre 3 y 10 h, después de 2 horas son observadas las concentraciones máximas plasmáticas (Oliver y Evers, 2013).

La acción sobre la COX 1/COX 2 de la indometacina en el proceso de disección con respecto a los diferentes AINEs, ha sido reportada con un perfil cinético de unión estrecha dependiendo del tiempo. En experimentos in vitro se encontró mayor diferencia entre actividades de los AINEs y la indometacina en la COX 1/COX 2, mediante análisis de proporción de su capacidad para bloquear una de las COX (Oliver y Evers, 2013).

### **3.1.5- Uso de medicamentos en El Salvador.**

La Encuesta de Hogares de Propósitos Múltiples (EHPM) para el año 2016, indica que el 13.9% de la población padeció de alguna enfermedad, síntoma o lesión. La prevalencia de enfermedad en el área urbana fue de 13.5% y en el área rural 14.7%. De esta población que padeció alguna enfermedad, el 40.9% no consultó con nadie o se automedica (Dirección General de estadísticas y censos [DIGESTYC], 2017).

En un estudio llevado a cabo en la Unidad de Salud La Cruz, Usulután, se identificó que los medicamentos más usados por la población que se automedica fueron los analgésicos, principalmente los AINEs y el acetaminofén. Este dato coincide con el

uso principal de los mismos, que fue el síntoma “dolor”. Además, concluyen que más de la mitad (58%) de la población que consume estos analgésicos, desconoce los efectos secundarios que poseen dichos fármacos al ser consumidos por largas dosis (Duran Turcios et al., 2008).

## **3.2- FUNDAMENTO TEÓRICO**

### **3.2.1- Plantas medicinales.**

Las plantas medicinales son todas aquellas que contienen en alguno de sus órganos principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes producen efectos curativos en las enfermedades del hombre. El estudio de los metabolitos de las plantas medicinales se centra principalmente en los componentes químicos que ejercen la acción farmacológica sobre el hombre (Pérez, 2008).

### **3.2.2- Características de la Familia Lauraceae.**

La familia Lauraceae o también conocida como laurel, tiene una distribución pantropical y comprende aproximadamente 50 géneros y entre 2000-3000 especies (Rohwer, 1993). Árboles o arbustos, por lo común perennifolios, pubescencia general, de estar presente; hojas alternas u opuestas, con células oleíferas usualmente conspicuas, simples y enteras. Con inflorescencias cimosas, paniculadas, capitadas, racemosas; flores hermafroditas o unisexuales. Fruto drupáceo, por lo común negro en la madurez y la parte carnosa de color verde o amarillo pálido, sostenido por un pedicelo poco o muy engrosado (Van de Weffer y Lorea, 1997). Posee plantas de mucha importancia comercial tales como *Persea americana* y *Cinnamomum verum* (Van de Weffer y Lorea, 1997).

### **3.2.3- Generalidades y distribución del género *Persea*.**

El género *Persea* procede de la mitología griega, en primer momento fue propuesto por Clusius (1601), posterior Linneo le otorga el nombre de *Laurus* (1753). Posee alrededor de 190 especies pertenecientes a la familia Lauraceae. Este género es



dividido en dos subgéneros: *Persea* y *Eriodaphne*. Entre las principales características a diferenciar que presentan está la pubescencia de tépalos y el tamaño del fruto; en *Persea* ambas caras de los tépalos son pubescentes, al contrario, en *Eriodaphne* solo en la cara abaxial. Por otro lado, los frutos de *Persea* son grandes, *Eriodaphne* es considerado el subgénero de los aguacatillos por tener frutos pequeños (2cm) árboles parecidos al aguacate (Campos et al., 2007; Álvarez Caballero, 2016).

Las especies del género *Persea* se encuentran distribuidas principalmente en Mesoamérica, Sudamérica y Sudeste de Asia. En cuanto al subgénero *Persea* en su mayoría están desde México a Guatemala, cubriendo la mayor parte de Centroamérica. El subgénero *Eriodaphne* principalmente está distribuido en Suramérica (Campos et al., 2007, Álvarez et al., 2016).

### **3.2.4- Características morfológicas y taxonomía de *Persea caerulea*.**

#### **3.2.4.1- Clasificación sistemática**

Nombre Común: “aguacatillo”

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: LAURALES

FAMILIA: LAURACEAE

GÉNERO: *Persea*

ESPECIE: *Persea caerulea* (Ruiz & Pav.) Mez

#### 3.2.4.2- Hábitat y distribución

En cuanto a la distribución altitudinal, según el Laboratorio de Botánica y Sistemática de la Universidad de Los Andes, se encuentra entre las *Persea* que presentan un rango de 1,000-2,500 msnm. *Persea caerulea* también puede encontrarse desde los 500-2000 m, en bosques de tierras bajas a bosques premontanos en Mesoamérica y Suramérica, principalmente en los países de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela (Álvarez Caballero, 2016).

#### 3.2.4.3- Características morfológicas de *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez

Árbol de aproximadamente 12 m de altura. Su corteza externa blanquecina, interior rosa (Figura 4a); ramas delgadas glabrescentes. Hojas alternas cartáceas; pecíolos pubescentes-tomentosos, rojizos; láminas ovadas-lanceoladas a elípticas-oblongo-ovadas, pubescente por el envés, venación terciaria poco prominente (Figura 3).

**Figura 3** Morfología de *Persea caerulea*



Inflorescencias axilares, paniculadas, muy densas; pedúnculos delgados glabrescentes rojizos. Flores pubescentes rojizas, tubo floral alargado; pedicelo 3-5 mm; tépalos I verticilo adaxial glabros, tépalos II verticilo, pubescentes tanto adaxial como abaxial; estambres verticilo I y II fértiles, filamentos pilosos, anteras tetraalvares que abren hacia arriba, conectivo de forma ovoide, estambres verticilo III con filamentos pilosos, anteras café-amarillento (Figura 4b), de cuatro valvas que abren hacia los lados, conectivo de forma ovoide, provistos de glándulas café oscuro, estambres IV verticilo (estaminodios), con filamentos pilosos amarillento, conectivo sagitado, café oscuro; ovario sub-globoso-ovoide. Infrutescencias múltiples, cáliz persistente (Figura 4c), drupa globosa (Álvarez Caballero, 2016).

**Figura 4** *Morfología de Persea caerulea*. 4a. Corteza externa de color blanquecino y en la parte interna rosa. 4b. Disposición de las flores en panículas, con anteras café-amarillento. 4c. Infrutescencias múltiples, frutos tipo drupas.

Fuente: UEIA, 201



### **3.2.5- Pruebas para evaluar la actividad analgésica.**

La actividad analgésica en modelos animales puede ser evaluada mediante las siguientes pruebas: las que poseen un estímulo térmico (prueba de placa caliente, prueba retirada de la cola y el de la inmersión de la cola en agua caliente), las de estímulo mecánico (prueba de presión de la pata o de la cola en la rata), las de estímulo eléctrico (prueba de estimulación eléctrica de la cola), y las de estímulo químico, que en entre ellas están las pruebas de ácido acético y la de formalina (Ortega et al., 2002).

- Pruebas de estímulo térmico.

Los estímulos térmicos usados para verificar dicha actividad, no son los más adecuados, ya que la temperatura que se le induce a la piel es muy baja, por tanto, eso no permite que las neuronas al activarse sean de forma sincronizada, esto influye que su respuesta al dolor no sea la adecuada (Ortega et al., 2002).

A continuación, se describe de una forma general las pruebas en modelos animales más utilizadas en la actividad analgésica, que corresponde a estímulos térmicos:

#### Prueba placa caliente.

Es una prueba que consiste en colocar al animal en una placa caliente (a una cierta temperatura) y durante un tiempo determinado, esto le provoca dolor al animal y reacciona lamiéndose las patas o saltando fuera de la superficie caliente. Esta reacción al dolor es registrada mediante un cronómetro. El ensayo sólo mide el dolor agudo, es decir, la activación de nociceptores periféricos en el tejido dañado (Toro Vega, 2009).

### Prueba retirada de la cola.

Para ello, se busca inmovilizar al animal en estudio, pero dejando la cola de este libre. A la cola del animal se le aplica un estímulo térmico, cuando siente dolor retira la cola de la fuente de calor donde se le coloca. Este ensayo es la prueba estándar usada para medir la actividad analgésica de fármacos, pero sus respuestas son por reflejo del animal. Además, según literatura consultada resulta complicado para experimentadores con poca experiencia, por ello, recomiendan el uso de un cepo (Toro Vega, 2009).

- Prueba de estímulo mecánico.

En cuanto a las pruebas con estímulo mecánico, sus respuestas son variadas de acuerdo con su intensidad y duración. Cuando se emplean los estímulos mecánicos nocivos se puede producir lesiones que hará que se modifique la valoración de la respuesta nociceptiva (Ortega et al., 2002).

- Pruebas de estímulo eléctrico.

Al igual que los estímulos mecánicos, los estímulos eléctricos poseen una variación de respuestas de acuerdo con su intensidad. Además, su estímulo es más lento, ya que se debe esperar a que el estímulo llegue primero a las fibras más gruesas y luego a las más finas, estas últimas son las responsables de la transmisión nociceptiva (Ortega et al., 2002).

- Pruebas de estímulo químico.

Por último, las pruebas por estímulo químico también pueden variar en intensidad, pero a diferencia de las demás su estimulación lenta favorece que el animal no evite el estímulo (Ortega et al., 2002).

### Prueba de formalina.

En los últimos años se ha avanzado en la investigación de los mecanismos del dolor, esto se lo debemos a los modelos animales que son usados en dichas investigaciones (Pacheco Marín, 2010).

La prueba de formalina muestra dos fases:

**Fase I.** Activación directa de los nociceptores que sigue a la injuria corrosiva que produce el irritante.

**Fase II.** Fase tardía debida a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria y la sensibilización central y periférica (Pacheco Marín, 2010). Las respuestas conductuales son: estiramiento y lamido de las patas traseras, y distensión exagerada del abdomen (Salazar Granara et al., 2015).

### Prueba de Ácido Acético.

Consiste en la inducción de contorsiones abdominales (distensión exagerada del abdomen y estiramiento de las patas traseras) durante los siguientes 20 minutos después de haber sido inyectados con ácido acético en el abdomen (Salazar Granara et al., 2015).

### **3.2.6- Análisis de Varianza (ANDEVA) y prueba post-hoc.**

El análisis de la varianza es una potente herramienta estadística, de gran utilidad tanto en la industria, para el control de procesos, como en el laboratorio de análisis, para el control de métodos analíticos. Es habitual su uso para la comparación de diversos resultados en estudios de laboratorios (Ricard Boqué, s.f.).

El ANDEVA de un factor sirve para comparar varios grupos de una variable cuantitativa. Es aplicada para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones independientes y con distribución normal. Para realizar el contraste ANDEVA se requieren “K” muestras independientes, y las hipótesis del contraste usadas son las siguientes:

1.  $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$  Las medias poblacionales son iguales.
2.  $H_1$ : Al menos dos medias poblacionales son distintas (Bakieva et al., s.f.).

Suponiendo que la hipótesis nula es cierta, el estadístico utilizado en el análisis de varianza sigue una distribución F de Fisher-Snedecor con  $k-1$  y  $n-k$  grados de libertad, siendo  $k$  el número de muestras y  $n$  el número total de observaciones que participan en el estudio (Bakieva et al., s.f.).

Se utilizan los contrastes llamados comparaciones múltiples post-hoc o a posteriori para saber qué media difiere de qué otra. Si el resultado del contraste es rechazar la igualdad de medias se puede plantear qué grupos dos a dos son los que tienen medias significativamente distintas. Una forma sería hacer contrastes de igualdad de medias para dos muestras independientes con la prueba T de Student (Bakieva et al., s.f.).

## IV- METODOLOGÍA

### 4.1- UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

### 4.2- RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

El material vegetal fue recolectado en Volcán Chinchontepec, municipio de Tepetitán en el departamento de San Vicente en octubre de 2018 (Figura 5), con las siguientes coordenadas geográficas: 13°36'6" N y 88°50'30" O, con una altitud de 1730 msnm.

**Figura 5** *Ubicación geográfica del sitio de colecta*



Fuente: Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) y Centro Nacional de Registros (CNR) (2005)

Elaborado por: Carlos Alberto Amaya (2020)



### 4.3- PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.

La extracción se realizó en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Después de la recolección, la corteza se secó a 40°C durante 72 horas. Posteriormente, fue molida y almacenada.

Se pesaron 100 g de corteza seca y molida, luego se depositaron en un Erlenmeyer de 2 L y se adicionó 1 L de agua destilada, se llevó a ebullición por 10 minutos y fue filtrado en caliente en papel filtro Whatman de poro grueso. El extracto obtenido fue concentrado a sequedad por medio del GENEVAC EZ-2 plus (evaporador) a un máximo de 45°C, y luego transferido a un desecador con gel de sílice hasta obtener el extracto acuoso seco. Previo a las pruebas se realizaron las diluciones (Figura 6) de *Persea caerulea*.

**Figura 6** Pesado del extracto en seco y dilución de este a una concentración de 100 mg/kg en un sonificador



#### 4.4- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Los ratones utilizados en las pruebas de toxicidad y analgesia pertenecen a la cepa NIH, machos, con intervalo de peso de 22 a 28 g, provenientes del LEA de CENSALUD. Los animales son cuidados de acuerdo con el procedimiento normalizado de trabajo (PROC-NT-02) del Laboratorio de Experimentación Animal; la temperatura en la sala de animales experimentales es de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con humedad relativa 50-60%. Tienen un ciclo de luz-oscuridad 12/12 horas. Una dieta con alimento comercial balanceado para roedores de laboratorio y un suministro ilimitado de agua. Para las pruebas de analgesia los ratones se dejaron en ayuno por 14 horas.

Los animales de experimentación fueron evaluados previo a las pruebas, para verificar que estaban en buen estado de salud. Observando que no presentaran cambios en el pelaje (piloerección), ojos (enrojecimiento), diarrea (heces blandas), pérdida de equilibrio o actividad normal. Posteriormente colocados en jaulas por grupos y marcados con ácido pícrico para su identificación individual (Tabla 2).

**Tabla 2** *Marcado individual de ratones con ácido pícrico para su identificación en las pruebas*

<b>RATÓN</b>	<b>PARTE MARCADA</b>
<b>1</b>	Sin marca
<b>2</b>	Cabeza
<b>3</b>	Espalda
<b>4</b>	Cola
<b>5</b>	Pata delantera derecha
<b>6</b>	Pata delantera izquierda
<b>7</b>	Pata trasera derecha
<b>8</b>	Para trasera izquierda
<b>9</b>	Ambas patas delanteras
<b>10</b>	Ambas patas traseras

#### **4.5- TOXICIDAD SUBAGUDA ORAL DE 14 DÍAS.**

Los ensayos se ejecutaron según lo establecido por la Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2001); la toxicidad fue evaluada mediante la prueba subaguda oral de catorce días a dosis repetidas. El alimento suministrado a los ratones de experimentación fue de forma controlada, llevando un registro de la cantidad que consumían (Anexo 1).

La prueba estuvo conformada por diez ratones (machos), que presentaban condiciones óptimas, estos se dividieron en dos grupos de cinco: un grupo control (agua destilada) y un grupo tratamiento (extracto acuoso de *Persea caerulea* a concentración de 500 mg/kg de peso corporal).

Dentro de los parámetros evaluados, se encuentra el peso corporal de los ratones (Figura 7), el día cero (primer día de dosificación), día siete y el último día antes de realizar la necropsia. El primer día de la dosificación, las observaciones clínicas se realizaron una vez durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas, con atención especial durante las primeras 4 horas.

Cada animal era observado diariamente de acuerdo con los parámetros de toxicidad (Tabla 3) llevando a cabo sus respectivos registros (Anexo 2). En ocasiones se presentan signos clínicos que indican un estado moribundo en los animales de laboratorio (Tabla 4), cuando muestran dolor intenso. Durante el transcurso de este período si los animales de experimentación presentan dolor intenso son sacrificados por el método eutanásico de dislocación cervical (Stokes, 2002).

**Figura 7** Toma de peso corporal antes de la dosificación  
y según los días establecidos



Al finalizar los 14 días, los ratones se sacrificaron para realizar la necropsia y extraer los órganos (hígado, corazón, pulmón, bazo, riñones, estómago e intestinos). Los órganos se evaluaron macroscópicamente de acuerdo a su apariencia, superficie, consistencia y color de cada órgano, y posteriormente se midieron y pesaron tomando su registro conveniente (Anexo 3).

**Tabla 3** *Parámetros de evaluación de toxicidad en animales de experimentación*

<b>PARÁMETRO DE TOXICIDAD</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
<b>Cambios en la piel</b>	Enrojecimiento, sequedad, exudación
<b>Cambios en el pelaje</b>	Textura, color, caída, pelaje erizado
<b>Ojos y membranas mucosas</b>	Enrojecimiento, sequedad, secreción anormal
<b>Sistema respiratorio</b>	Aumento o disminución en la frecuencia respiratoria
<b>Ataxia</b>	Pérdida del equilibrio
<b>Parálisis</b>	Pérdida de respuesta en extremidades
<b>Actividad somatomotor</b>	Aumento o disminución de la actividad normal
<b>Pilo-erección</b>	Pelaje erizado
<b>Temblores y convulsiones</b>	Contracción muscular anormal espontánea
<b>Salivación</b>	Exceso de secreción bucal
<b>Diarrea</b>	Heces blandas o deposición acuosa

\*Nota: Adaptado de OECD 2001

**Tabla 4** Chequeo clínico de animales de experimentación en estado moribundo

CATEGORÍA	SIGNO
Comportamiento	Deambulaci3n exagerada Impide que alcancen la comida o agua
Peso corporal	P3rdida excesiva de peso Emaciaci3n extrema
Actividad	Falta de alerta f3sica o mental
Respiraci3n	Dificultad para respirar
Postura	Incapacidad prolongada para permanecer erguido

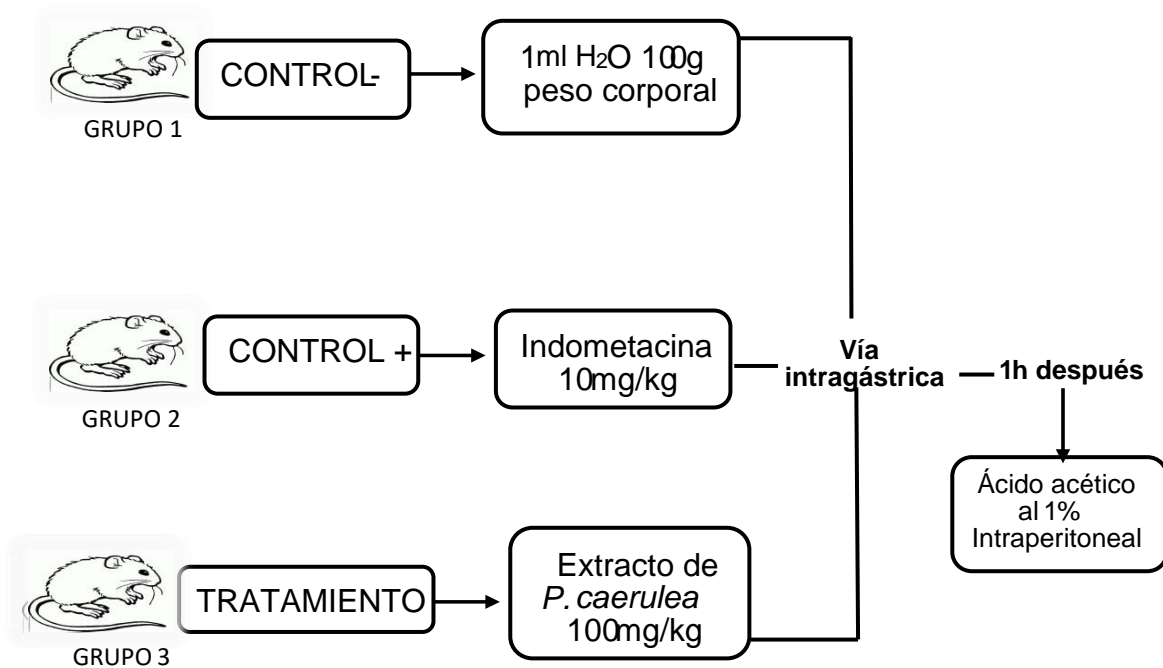
\*Nota: Adaptado del protocolo para pruebas experimentales de CENSALUD

#### 4.6- PRUEBA DE 1CIDO AC3TICO

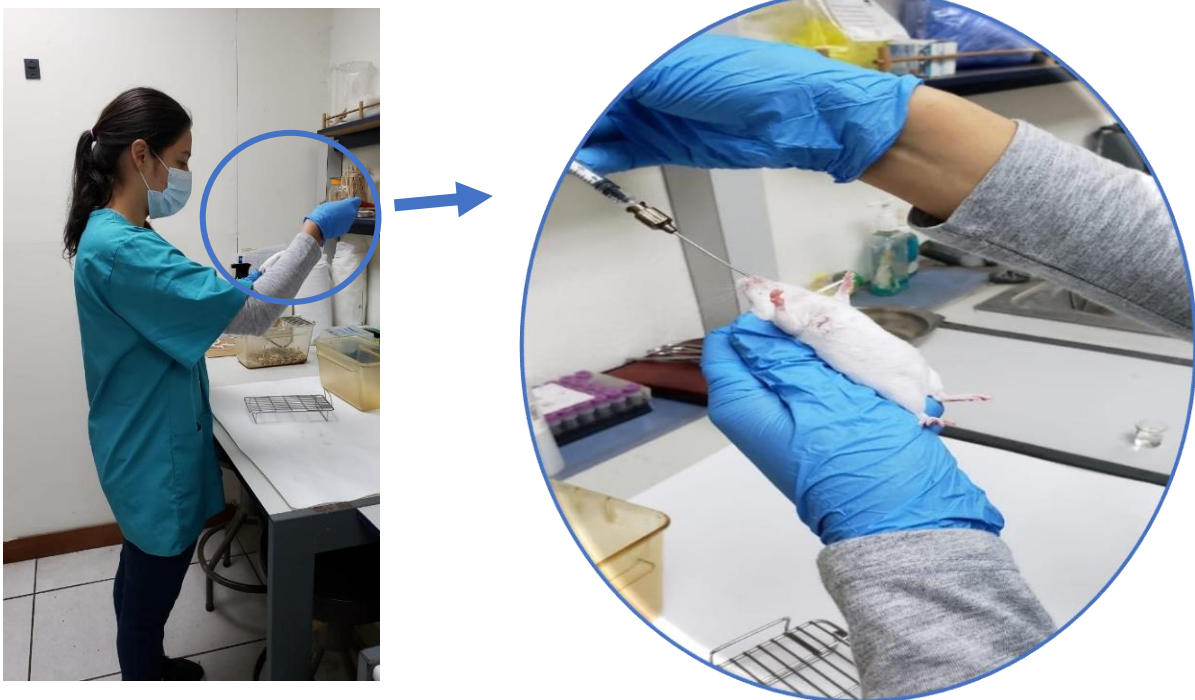
Dicho ensayo estuvo conformado por 3 grupos, de 10 ratones cada uno. Estos grupos experimentales fueron distribuidos de la siguiente manera (Figura 8): Grupo 1: Control negativo (agua destilada). Grupo 2: Control positivo (Indometacina 10 mg/kg). Grupo 3: Experimental, fue tratado con extracto acuoso de *Persea caerulea* a una concentraci3n de 100 mg/kg. La administraci3n fue v3a intrag1strica (Figura 9) en todos los grupos a un volumen de 1 ml/100 g peso corporal.

Despu3s de transcurrir una hora post administraci3n del tratamiento, en cada grupo los animales fueron inyectados con 1cido ac3tico al 1% por v3a intraperitoneal para provocarles las contorsiones abdominales y se colocaron en jaulas de forma individual, registrando la cantidad de contorsiones abdominales durante los siguientes 30 minutos a la inyecci3n.

**Figura 8** Distribución de dosis administradas en la prueba de ácido acético, por grupo de experimentación



**Figura 9** Canulación por vía intragástrica del extracto acuoso de *Persea caerulea*



## Porcentaje de inhibición

Se calculó el porcentaje de inhibición de contorsiones utilizando la siguiente ecuación (Guerra Ángel, 2017):

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{X_c - X_p}{X_c} * 100$$

Dónde:

X<sub>p</sub> = número de estiramientos del grupo problema

X<sub>c</sub> = número de estiramientos del grupo control

## 4.7- ANÁLISIS DE ESTADÍSTICOS.

En el análisis estadístico se utilizó el software SPSS versión 25. El contraste de Shapiro-Wilks se realizó para evaluar la normalidad de los datos. En el caso de los resultados obtenidos de la prueba de analgesia, la normalidad se evaluó sobre los residuos del modelo lineal que evalúan la relación entre la variable dependiente (número de contorsiones) y la variable independiente (tratamiento).

Para la prueba de toxicidad fue utilizado el análisis T de Student de muestras independientes, en peso corporal y peso de órganos. Las hipótesis de las pruebas de analgesia se evaluaron mediante ANDEVA de un factor, seguido de una prueba de Tukey. La diferencia entre los grupos tratados y el grupo control es significativa (\*) cuando  $p < 0.05$ . Todos los resultados están expresados como la Media  $\pm$  la Desviación Estándar de los grupos experimentales.

## V- RESULTADOS

### 5.1- TOXICIDAD SUBAGUDA CONTINUA DE 14 DÍAS.

En el chequeo clínico realizado periódicamente a los ratones tratados con extracto acuoso de *Persea caerulea*, no se evidenció parámetros notables de toxicidad.

En la Tabla 5, se detallan los valores de peso corporal inicial (PI), en día 7 (P-Día 7) y 14 (P Día 14) registrados a ambos grupos. Se puede observar que en cuanto al estadístico en p valor no existen diferencias significativas entre grupo control y grupo experimental (extracto acuoso). El porcentaje en peso corporal en ambos grupos fue similar, obteniendo un porcentaje del 3.03% en H<sub>2</sub>O destilada, y el grupo tratado con extracto acuoso de *P. caerulea* presentó una disminución, con un porcentaje de -2.08%.

**Tabla 5** Valores promedio de peso corporal (g) en grupos experimentales con dosis continua del extracto acuoso de *Persea caerulea* y disminución total

Grupo	PI	P-Día 7	P-Día 14	D (%)	Sig
H <sub>2</sub> O destilada	25.54 ± 0.59	26.4 ± 0.70	26.32 ± 0.89	3.03 ± 1.42	-
<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	25.18 ± 3.10	23.7 ± 1.83	24.6 ± 2.73	-2.08 ± 5.11	0.088

En el peso de órganos en la Tabla 6, la mayoría de éstos no mostraron diferencias estadísticas, a excepción del intestino delgado del grupo tratado con el extracto acuoso (p= 0.044\*) que mostró una disminución de peso comparado con el grupo control. Existen variaciones de peso entre los órganos de ambos grupos; como el hígado, corazón, riñones, estómago, bazo e intestino grueso, aunque no son estadísticamente significativas, todos los mencionados mantienen una tendencia a la reducción del peso.



En cuanto a la evaluación macroscópica de los órganos (aparición, superficie, consistencia, y color de órganos) se evidenció palidez en el estómago, hígado y pulmones de dos individuos tratados con extracto acuoso.

**Tabla 6** Valores promedio de peso de órganos en grupos experimentales con dosis continua del extracto acuoso de *Persea caerulea*

Órgano	Grupo	Media ± DE	Sig.
<b>Hígado</b>	H <sub>2</sub> O destilada	1.548 ± 0.204	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	1.420 ± 0.196	0.341
<b>Corazón</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.122 ± 0.031	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.113 ± 0.0287	0.653
<b>Pulmones</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.170 ± 0.026	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.200 ± 0.030	0.127
<b>Riñones</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.404 ± 0.040	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.362 ± 0.016	0.063
<b>Estómago</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.420 ± 0.071	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.368 ± 0.106	0.389
<b>Bazo</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.110 ± 0.018	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.094 ± 0.019	0.249
<b>Intestino delgado</b>	H <sub>2</sub> O destilada	1.740 ± 0.252	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	1.396 ± 0.201	<b>0.044 **</b>
<b>Intestino grueso</b>	H <sub>2</sub> O destilada	0.886 ± 0.059	
	<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	0.804 ± 0.103	0.163

Valor p < 0.05; \*\* Valor de p < 0.044; DE: Desviación Estándar

En la siguiente Tabla 7 se muestra el porcentaje de comida consumido por grupos. Estos valores se registraron en las mismas fechas de toma de peso corporal. El grupo tratado con agua destilada presentó un porcentaje total de 61%, mayor que el consumido en el grupo tratamiento.

**Tabla 7** *Porcentaje de consumo de alimento por semana y total (Ct%) en grupos experimentales*

Consumo porcentual por semana						
Grupo	Inicial (g)	Semana 1 (g)	%	Final (g)	%	Ct (%)
H <sub>2</sub> O destilada	300	86.3	28.7	97.1	32.4	61.13
<i>P. caerulea</i> (500 mg/kg)	300	73	24.3	52.8	17.6	41.93

## 5.2- PRUEBA DE ÁCIDO ACÉTICO.

Las contorsiones abdominales obtenidas en los grupos tratados con Indometacina y *Persea caerulea* reflejan una reducción en sus medias, comparado al grupo que fue administrado con agua destilada (Tabla 8). Dicho lo anterior, se puede corroborar que el porcentaje de inhibición de contorsiones abdominales fue mayor en el grupo de *P. caerulea* con un 79.22%, frente a un 54.89% de inhibición en el grupo tratado con el fármaco de referencia.

**Tabla 8** *Valores promedios y porcentaje de inhibición del dolor en la prueba de ácido acético*

Grupos	Media ± DE	Porcentaje de inhibición (%)
H <sub>2</sub> O destilada	33.70 ± 14.06	-
Indometacina (10 mg/kg)	15.20 ± 11.83	54.89
<i>P. caerulea</i> (100 mg/kg)	7.00 ± 8.08	79.22

DE: Desviación Estándar

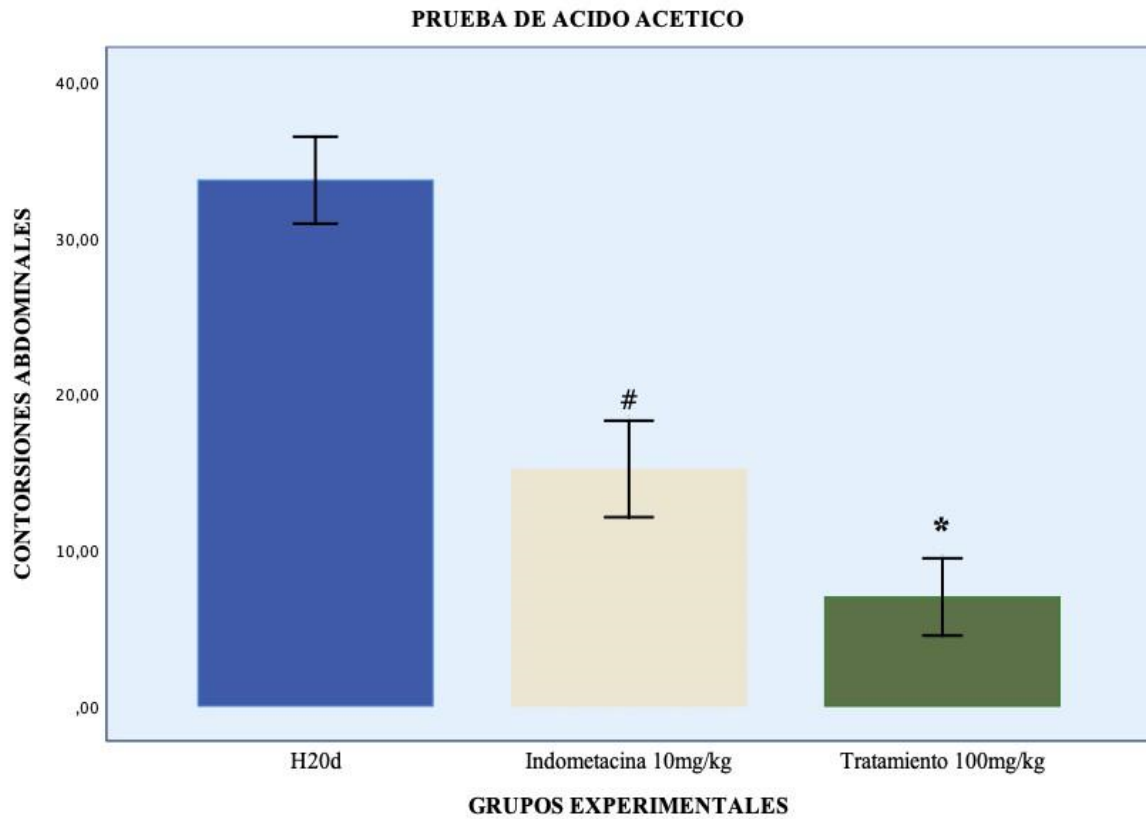
La prueba de Tukey permite comparar las medias en los grupos experimentales, al presentar un nivel de significancia  $< 0.05$  podemos aceptar la hipótesis alternativa, y confirmar que tanto el grupo tratado con Indometacina presentó una significancia baja de 0.006 (Tabla 9), como el grupo tratado con extracto acuoso de *P. caerulea* (0.001). Ambos grupos tuvieron una reducción significativa de contorsiones abdominales en los grupos experimentales (Figura 10).

**Tabla 9** Comparaciones de grupos experimentales  
de la prueba de ácido acético. HSD Tukey

GRUPO (I)	GRUPO (J)	DIFERENCIA DE MEDIAS (I-J)	DESV. ERROR	Sig.	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	18.500 *	5.408	.006*	4.95	32.04
	3	26.700 *	6.244	.001*	11.06	42.33
2	1	-18.500 *	5.408	.006	-32.04	-4.95
	3	8.200	6.244	.402	-7.43	23.83
3	1	-26.700 *	6.244	.001	-42.33	-11.06
	2	-8.200	6.244	.402	-23.83	7.43

Grupos: 1. H<sub>2</sub>Od. 2. Indometacina (10 mg/kg). 3. *P. caerulea* (100 mg/kg).  
Valor de  $p < 0.05$ . \*\* Valor de  $p < 0.01$

**Figura 10** Prueba de Tukey en ácido acético. Valor de  $p < 0.05$ . El control positivo (Indometacina) tiene una diferencia significativa de #  $p = 0.006$  comparado con el control negativo ( $H_2O$  destilada). En cuanto al tratamiento una diferencia en valor \*  $p = 0.01$  con respecto al control negativo



## VI- DISCUSIÓN

Los modelos animales son usados para evaluar pruebas de toxicidad con el fin de generar nuevos fármacos. Barrios et al. (2011) cita criterios que son empleados en investigaciones oncológicas y toxicológicas como signos de dolor, entre ellas: incremento o disminución de la defecación, cambios en la conducta e inmovilidad (el hecho que se queden acostados), cambios en la apariencia del vello corporal.

De los parámetros antes mencionados y evaluados en la prueba de toxicidad, algunos individuos de ambos grupos presentaron una leve piloerección. En el grupo tratado con extracto acuoso en un individuo se evidenció ruidos en los últimos días de dosificación. Al presentar piloerección en ambos grupos (control y tratamiento), no puede definirse en el presente estudio como un signo de toxicidad, sino como una consecuencia de la manipulación diaria al administrarles agua destilada al grupo control o el extracto acuoso de *P. caerulea* en el grupo tratamiento.

El peso corporal fue utilizado como indicador de toxicidad. De acuerdo con el contraste de hipótesis, con un valor  $p = 0.08$ , se acepta la hipótesis alternativa de igualdad de medias, concluyendo que la administración continua de 14 días del extracto de *Persea caerulea* no produjo efectos adversos en el peso corporal de los ratones. Mancebo et al. (2002), alude que a través de los datos de peso corporal podemos conocer niveles bajos de toxicidad, debido a la sensibilidad para detectar alteraciones.

En cuanto a esta variación de peso puede considerarse como un efecto adverso si existe una disminución de más del 10% del peso corporal inicial. Este parámetro de evaluación en el estudio no presentó diferencias significativas con relación al control, debido a que hubo una pérdida muy baja de 2.08%. Así mismo, la disminución del porcentaje de alimento consumido en el transcurso de la prueba para el grupo tratamiento fue baja con relación a la pérdida de peso (Rojas y Díaz, 2009).

En la necropsia se realizan exámenes de órganos, que incluyen cambios en el tamaño, peso, forma, superficie, color, consistencia; todos estos parámetros determinan los daños toxicológicos (Höfle, 2007). Respecto a estas evaluaciones realizadas en este estudio, el intestino delgado del grupo tratamiento presentó diferencias significativas en valor p, atribuyéndose a la baja de peso en el grupo tratamiento. Aunque es importante mencionar que en la evaluación macroscópica de los órganos se evidenció palidez en el estómago, hígado y pulmones de dos individuos tratados con extracto acuoso. La lesión celular es la mayor manifestación que explica la hinchazón celular que es notado en todo el órgano. Esto implica que cuando afecta a muchas células de un órgano, estos pueden presentar cierta palidez, un aumento en la turgencia y en el peso corporal. Dicho esto, el aumento de peso corporal en día 14 del grupo tratamiento (a pesar de la disminución observada en la primera semana) puede tener relación con la hinchazón celular (Kumar et al., 1997).

Por otro lado, un estudio evaluó la actividad citotóxica moderada de *Persea caerulea* en hojas, corteza y madera; dando positivo solo en corteza frente a cinco líneas celulares: A549 (carcinoma de pulmón), HT-29 (carcinoma de colón), Hep G2 (carcinoma hepatocelular), MDA-MB 231 (cáncer de seno) y Hela (cáncer de cervix). Dentro de la fitoquímica aislaron una cumarina (escopoletina) que se encuentra presente tanto en las hojas como en corteza de la especie, los resultados indican que posee un grado variable de perfiles de citotoxicidad. La quinona aislada en este estudio presentó valores de CLD50 en comparación a los demás compuestos en varias líneas celulares, esta naftoquinona previo al estudio es reportada con actividad citotóxica en la corteza de la especie (Rahmoun et al., 2013, Álvarez Caballero, 2016).

El alto porcentaje de inhibición al dolor producido por el ácido acético (79%), demuestra la actividad analgésica del extracto acuoso de *Persea caerulea* a dosis de 100mg/kg. La actividad biológica en estudio ha sido confirmada en dos especies

del género *Persea*. Por tanto, estos resultados se pueden contrastar con los publicados por Adeyemi et al. (2002), al confirmar la actividad analgésica en distintas dosis (200, 400 y 1600 mg/kg) del extracto acuoso de *Persea americana*. Así mismo, Mejía et al. (2021), reporta analgesia en diferentes extractos de *P. schiedeana* a concentraciones de 100, 250 y 500mg/kg.

Con respecto a la fitoquímica de *Persea caerulea* varios estudios reportan su composición química, dentro de ellos Álvarez et al. (2015) menciona que del extracto etanólico de las hojas por primera vez se aislaron dos glicósidos flavonoides: kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido y quercetina-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosido, para la quercetina no existen estudios previos que describan su presencia en el género *Persea*. Por otro lado, se conoce que la quercetina-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosido se caracteriza por tener propiedades antiinflamatorias y efectos antiinfecciosos. Asimismo, Álvarez et al. (2016) confirman la presencia de ambos flavonoides, e incorpora ocho compuestos, entre ellos cumarinas y de tipo esteroideo a la lista de *Persea caerulea*. Estos flavonoles son similares a los reportados anteriormente para especies del género *Persea*.

Mejía et al. (2021), evaluaron tres extractos: acuoso, etanólico y diclorometano en hojas de *Persea schiedeana* a diferentes concentraciones, en todos hubo una reducción del dolor. En la fitoquímica de la especie también reportan la escopoletina como responsable de la actividad analgésica para *P. schiedeana*.

Álvarez Caballero (2016), demuestra que, desde el punto de vista metabólico de las plantas, las hojas poseen más compuestos químicos con relación a la corteza y madera. Esto a pesar de que hayan sido colectadas de diferentes lugares y en diferentes condiciones ambientales. Aislaron del extracto etanólico de corteza en *P. caerulea* cuatro compuestos, entre ellos: un esteroide ( $\beta$ -sitosterol), una cumarina (escopoletina), un flavonol (5,7-dimetoxi-3',4'-metilendioxi epicatequina) y una quinona (2,7-dimetoxi-5-hidroxi-6-(1-hidroxietil)-1,4-naftoquinona). La cumarina

anteriormente citada se encuentra también presente en las hojas de la especie, además de poseer citotoxicidad posee mucho interés, ya que es reportada con actividad antiinflamatoria, antioxidante, neuroprotectiva y antitumoral. La naftoquinona también es reportada con algunas actividades biológicas ya mencionadas: actividad antiinflamatoria, antitumoral y antibacterial.



## VII- CONCLUSIONES

La prueba de toxicidad subaguda con extracto acuoso de *Persea caerulea* por vía oral a dosis continua de 14 días no presentó diferencias significativas a simple vista en las observaciones clínicas y pesos tanto corporal como de órganos en relación al grupo control.

A pesar de que, en los parámetros tomados a nivel macroscópico de evaluación de órganos, se evidenció palidez en hígado, estómago y pulmones de dos individuos, al presentar la especie estudios previos de citotoxicidad no es posible descartar los efectos tóxicos en *P. caerulea*. Sin embargo, debido a que los parámetros evaluados en el presente estudio no superan el rango establecido, se opta por aceptar la hipótesis alternativa, que el extracto acuoso de *Persea caerulea* a 500mg/kg en dosis continua de 14 días no posee toxicidad.

Los resultados obtenidos a través de la prueba de ácido acético evidencian la actividad analgésica del extracto acuoso de *Persea caerulea* en corteza, a dosis de 100mg/kg.

En cuanto a las propiedades farmacológicas, dentro de los componentes químicos reportados, la escopoletina recientemente ha sido confirmada con dicha actividad en *Persea schiedeana*, otorgándole a esta cumarina la actividad biológica en estudio.

## VIII- RECOMENDACIONES

- Generar investigaciones sobre la fitoquímica y el potencial etnobotánico de *Persea caerulea*, ya que estudios reportan las diferencias que puede presentar la especie en su composición química, con respecto al lugar y las condiciones ambientales donde se encuentre.
- Realizar más estudios de toxicidad subaguda oral de 14 días de *Persea caerulea*, para complementar con bioquímica sanguínea, hematología e histopatología. De igual forma, estudios a diferentes concentraciones y dosis del extracto acuoso u otros tipos de extractos (metanólico, etanólico, clorofórmico, etc.), para verificar la actividad analgésica de la planta en estudio.
- En futuros estudios de toxicidad para *Persea caerulea*, utilizar ratones de ambos sexos, por las diferencias que existen en cuanto a la absorción de sustancias.
- Registrar datos de peso del alimento consumido por individuo, esto aportaría a las futuras investigaciones un criterio más detallado sobre las diferencias de peso corporal en los grupos, para determinar parámetros de toxicidad.

## IX- REFERENCIAS

- Adeyemi OO, Okpo SO & Ogunti OO. (2002). Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae). *Fitoterapia* 73(5), 375-380. DOI: [10.1016/S0367-326X\(02\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00118-1)
- Alkhalf MI, Alansari WS, Ibrahim EA, Elhalwagy ME. (2018). Anti-oxidant, antiinflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract. *Journal of King Saud University – Science*.1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.10.010>
- Álvarez Caballero JM. (2016). Estudio Químico Comparativo de Metabolitos Fijos y Aceite Esencial de *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez y Evaluación de su Actividad Biológica [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia].
- Alvárez JM, Cuca LE, Carrasco Pancorbo A, Ruíz Muelle AB, Fernández I, Fernández Gutiérrez A. (2016). Phenolic constituents of leaves from *Persea caerulea* Ruiz & Pav; Mez (Lauraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 67:53-57. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.05.010>
- Aranguren Ruíz I, Elizondo Rivas G, Azparren Andía A. (2016). Consideraciones de seguridad de los AINEs. *Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra*. 24(2); 1-12.
- Bakieva M, González Such, Jornet J. SPSS: ANOVA de un Factor. Grupo de Innovación Educativa, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (innovaMIDE).
- Blanco Tarrío E. (2010). Tratamiento del dolor agudo. Formación continuada terapéutica en atención primaria. *Semergen*. 36(7): 392-398. DOI: [10.1016/j.semerg.2010.05.003](https://doi.org/10.1016/j.semerg.2010.05.003)
- Barrios EE, Espinoza M, Leal U, Ruiz N, Pinto V, Jurado B. (2011). Bioética y el empleo de animales de experimentación en investigación. *Salus* 15(2): 50-63.
- Cajaraville JP, Abejón D, Ortiz JR, Pérez JR. (2005). El dolor y su tratamiento a través de la historia. *Rev. Soc. Esp. del Dolor*. 12(6): 373-384.
- Chang HS y Chen IS. (2016). Chemical constituents and bioactivity of Formosan lauraceous plants. *Journal of food and drug analysis* 24, 247-263 <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.10.008>
- Campos Rojas E, Terrazas T, López Mata L. (2007). *Persea* (avocados) phylogenetic analysis based on morphological characters: hypothesis of

species relationships. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54:249–258  
<https://doi.org/10.1007/s10722-005-3808-x>

De Lima AB, Santana MB, Cardoso AS, R da Silva JK, S Maia JG, T Carvalho JC, C Sousa PJ. (2009). Antinociceptive activity of 1-nitro-2-phenylethane, the main component of *Aniba canelilla* essential oil. *Phytomedicine*. 16, 555–559. DOI: [10.1016/j.phymed.2008.10.007](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.007)

Di Stasi LC, Oliveira GP, Carlvalhaes MA, Queiroz Junior M, Tien OS, Kakinami SH, Reis MS. (2002). Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia* 73, 69-91.  
DOI: [10.1016/s0367-326x\(01\)00362-8](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(01)00362-8)

Dirección General de Estadísticas y Censos. [DIGESTYC] (2017). Encuesta de Hogares de Propósitos Múltiples (EHPM) 2016. San Salvador, El Salvador.

Duran Turcios GA, Mata-Roque CA, Ramírez Díaz JA. (2008). Perfil socio epidemiológico y cultural de la automedicación en los consultantes entre 18-70 años, unidad de salud la cruz, Usulután [Tesis de grado, Universidad de El Salvador].

Fang SH, Rao YK, Tzeng YM. (2005). Inhibitory effects of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum* on inflammatory mediators in LPS/IFN-g-activated murine macrophages. *Bioorg Med Chem*. 13:2381-8.  
DOI: [10.1016/j.bmc.2005.01.050](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.01.050)

Fernández Torres B, Márquez C, De las Mulas M. (1999). Dolor y enfermedad: evolución histórica I. De la Prehistoria a la Ilustración. *Rev. Soc. Esp. Dolor*. 6: 281291.

González Pérez R, Poza Guedes P, Vives R, Canto G. (2002). Antiinflamatorios inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2). *Alergol Inmunol Clin*. 17:24754.

González T, García MB, Matheus D. (2011). Uso de opioides en el tratamiento del dolor. Manual para Latinoamérica. Cuarta parte: uso de opioides. Primera edición.

Grecco SS, Lorenzi H, Tempone AG, Lago JH. (2016). Update: biological and chemical aspects of *Nectandra* genus (Lauraceae). *Tetrahedron: Asymmetry*. 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2016.07.009>

- Guerra Angel RL. (2017). Efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* (CACTACEAE) en ratones de laboratorio [Tesis de grado, Universidad de El Salvador].
- Hernández González M. (2017). Caracterización de fármacos (emodina, ketorolaco, indometacina y piroxicam) sobre nanopartículas metálicas mediante espectroscopía molecular (SERS y MEF). [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid].
- Hernández M, Pizarro A, Saucedo Y, Bernal TLL, Tamayo M, Machado FB. (2014). Actividad antipirética de un extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. en ratas de la línea Wistar como modelo experimental. Acta Médica del Centro 8(3).
- Höfle U. (2007). Técnicas de Diagnóstico Post-Mortem: Necropsia y Toma de Muestras. España: Sevilleja de la Jara.
- Hurtado Fernández E, Fernández Gutiérrez A, Carrasco Pancorbo A. (2018). Avocado fruit - *Persea americana*. Exotic Fruits Reference Guide. 37-48. DOI:[10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0)
- Jerez M. (2007). Caracterización del sector medicamentos y sus condiciones de competencia. Superintendencia de competencia de la república de el salvador. Programa compal de la Conferencia de las Naciones Unidas Sobre Comercio y Desarrollo (UNCTAD).
- Koo HJ, Yoon WJ, Sohn EH, Ham YM, Jang SA, Kwon JE, Jeong YJ, Kwak JH, Sohn E, Park SY *et al.* (2014). The analgesic and anti-inflammatory effects of *Litsea japonica* fruit are mediated via suppression of NB-kB and JNK/p38 MAPK activation. International immunopharmacology. 22, 84-97. DOI:[10.1016/j.intimp.2014.06.007](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.06.007)
- Kuo YC, Lu CK, Huang LW, Kuo YH, Chang C, Hsu FL, Lee TH. (2005). Inhibitory effects of acylated kaempferol glycosides from the leaves of *Cinnamomum kotoense* on the proliferation of human peripheral blood mononuclear cells. Planta Med. 71:412-5. DOI:[10.1055/s-2005-864134](https://doi.org/10.1055/s-2005-864134)
- Kumar V, Cotran R, Robbins S. Patología Humana. 6ª ed. McGrawHillInteramericana.
- Liou BJ, Chang HS, Wang GJ, Chiang MY, Liao CH, Lin CH, Chen IS. (2011). Secondary metabolites from the leaves of *Neolitsea hiiranensis* and the antiinflammatory activity of some of them. Phytochemistry. 72:415-22. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.006>

- Mancebo A, Scull I, González Y, Arteaga M, González B, Fuentes D, *et al.* (2002). Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. *Rev Toxicol.* 19:73-8.
- Mejía JG, Vásquez S, Salazar R, Muñoz L, Guardado-Castillo U, Paz-González AD, *et al.* (2021). Analgesic activity and phytochemical profile of aqueous, ethanol and dichloromethane extracts of *Persea schiedeana* leaves. *IJPSR.* 12(8): 1000-07.
- Novais MH, Santos I, Mendes S, Pinto-Gomes C. (2004). Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology.* 93, 183–195. DOI:[10.1016/j.jep.2004.02.015](https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.015)
- Organization for Economic Cooperation and Development [OECD]. (2001). Guideline for testing of chemicals. No 423.
- Oliver S & Evers S. (2013). Mechanism of Action of Indomethacin in IndomethacinResponsive Headaches. *Curr Pain Headache Rep.* 17:327 - 334. DOI: [10.1007/s11916-013-0327-x](https://doi.org/10.1007/s11916-013-0327-x)
- Organización Mundial de la Salud. [OMS] (2004). Portal de Información - Medicamentos Esenciales y Productos de Salud.
- Ortega A, Roca A, Micó JA. (2002). Modelos animales del dolor: una visión crítica. *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 9(7):447-453.
- Pacheco Marín NC. (2010). Modulación nitridérgica de la antinocicepción del dexketoprofeno en dolor orofacial experimental (Tesis de cirujano dentista), Universidad de Chile.
- Pedrajas Navas JM, Molino González AM. (2008). Bases neuromédicas del dolor. *Ciencia y Salud.* 19(3): 277-293.
- Pérez IC. (2008). El uso de las Plantas Medicinales. Universidad Veracruzana Intercultural. *Revista Intercultural.* 47- 120.
- Prieto JM. (2007). Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs). ¿Dónde estamos y hacia dónde nos dirigimos? *Cient Dent.* 4(3):203-212.
- PROC-NT-002. Procedimiento normalizado de trabajo: Vías de administración y toma de muestras (rata y ratón). Laboratorio de Experimentación Animal (LEA), Universidad de El Salvador.

- Ricard Boqué AM. EL ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA). Comparación de múltiples poblaciones. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Universitat Rovira i Virgil.
- Rojas J, Díaz D. (2009). Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá) en ratas. An Fac med. 70(3):175-80.
- Rohwer JG. (1993). In the Families and Genera of Vascular Plants, Vol. II: Flowering Plants: Dicotyledons Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. Springer-Verlag, Berlin. 366–391.
- Salazar Granara AA, Torres Acosta L, Siles de la Portilla A, Palacios Ramírez S, Vergara Ascenzo CA, Torres-Angulo C, Pante-Medina C. (2015). Efecto analgésico y sobre la neuroconducta de la interacción entre tramadol y diclofenaco en dosis escalonada en ratones. Acta Med Per. 32(2):91-97.
- Sayyah M, Saroukhani G, Peirovi A, Kamalinejad M. (2003). Analgesic and Antiinflammatory Activity of the Leaf Essential oil of *Laurus nobilis* Linn. Phytother. Res. 17, 733–736. <https://doi.org/10.1002/ptr.1197>
- Scheiman JM. (2009). Balancing Risks and Benefits of Cyclooxygenase – 2 Selective Nonsteroidal Anti – Inflammatory Drugs. Gastroenterol Clin N Am. 38:305–314. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2009.03.006>
- Senthil KKJ, Hsieh HW, Wang SY. (2010). Anti-inflammatory effect of lucidone in mice via inhibition of NF-kB/MAP kinase pathway. Int Immunopharmacol. 10:385-92. DOI: [10.1016/j.intimp.2009.12.013](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.12.013)
- Simic A, Sokovic D, Ristic M, Grujic-Jovanovic S, Vukojevic J, Marin PD. (2004). The Chemical Composition of some Lauraceae Essential Oils and Their Antifungal Activities. Phytother. Res. 18, 713–717. <https://doi.org/10.1002/ptr.1516>
- Singh R y Jawaid T. (2012). *Cinnamomum camphora* (Kapur): Review. Pharmacognosy Journal. 4, 1-5. <https://doi.org/10.5530/pj.2012.28.1>
- Stokes W. (2002). Humane Endpoints for Laboratory Animals Used in Regulatory Testing. ILAR Journal. 43: S31-S38. [https://doi.org/10.1093/ilar.43.Suppl\\_1.S31](https://doi.org/10.1093/ilar.43.Suppl_1.S31)
- Toro Vega VA. (2009). Evaluación de la actividad analgésica aguda y crónica de *Phytolacca dioica* [tesis de grado, Universidad de Chile].

- Valdivielso Serna A. (1998). Dolor agudo, analgesia y sedación en el niño (IIIa): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos opioides. *An Esp Pediatr*;48:429-440.
- Valdivielso Serna A. (1998). Dolor agudo, analgesia y sedación en el niño (II): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos no opioides. *An Esp Pediatr*;48:183-194
- Van de Weffer H, Lorea F. (1997). LAURACEAE. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. 1-58.
- Vásquez B, Berenguel MR. (2011). Uso de opioides en el tratamiento del dolor. Manual para Latinoamérica. Tercera parte: efecto de los opioides. Primera edición.
- Wah Li JM. (2008). Pain Management in the Hospitalized Patient. *Med Clin N Am*. 92:371–385. DOI: [10.1016/j.mcna.2007.11.003](https://doi.org/10.1016/j.mcna.2007.11.003)
- Wang SY, Lan XY, Xiao JH, Yang JC, Kao YT, Chang ST. (2008). Antiinflammatory activity of *Lindera erythrocarpa* fruits. *Phytother Res*. 22:213-6. <https://doi.org/10.1002/ptr.2289>
- Wong SL, Chang HS, Wang GJ, Chiang MY, Huang HY, Chen CH, Tsai SC, Lin CH, Chen IS. (2011). Secondary metabolites from the roots of *Neolitsea daibuensis* and their anti-inflammatory activity. *J Nat Prod*. 74:2489-96. <https://doi.org/10.1021/np100874f>



# **X- ANEXOS**

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL  
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD  
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**ANEXO 1  
HOJA DE REGISTRO DE PESO CORPORAL**

**DESCRIPCION GENERAL:** Toxicidad Aguda Oral de 14 días.

SUSTANCIA DE ENSAYO:  CONCENTRACION O DOSIS:  VIA DE ADMINISTRACION:

TIEMPO DE EXPOSICION:  N° JAULA:  N° DEL/LOS ANIMALES:

SEXO:  ESPECIE:  CEPA:  FECHA INICIO:  FECHA FINAL:  GRUPO:

**PESO CORPORAL**

N	MG/KG/PESO		
	DIA 0	DIA 7	DIA 14
1			
2			
3			
4			
5			

**ALIMENTO CONTROLADO**

GRUPO / ALIMENTO	INICIAL (g)	CONSUMIDO (g)	CONSUMIDO (g)
	DÍA 0	DÍA 7	DÍA 14
CONTROL			
TRATAMIENTO			

**NOTA:** SE UTILIZAN ANIMALES DISTINTOS POR CONCENTRACION DE LA SUSTANCIA DE ENSAYO.

**OBSERVACIONES**

RESPONSABLE DE LA PRUEBA: \_\_\_\_\_

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL  
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD  
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**ANEXO 2  
ENSAYOS DE TOXICIDAD  
HOJA DE OBSERVACIONES CLINICAS DE 14 DÍAS**

**DESCRIPCION GENERAL**

PROTOCOLO: \_\_\_\_\_ SUSTANCIA DE ENSAYO: \_\_\_\_\_ CONCENTRACION O DOSIS: \_\_\_\_\_

FECHA INICIO: \_\_\_\_\_ FECHA FINAL: \_\_\_\_\_ SEMANA Nº: \_\_\_\_\_ PERIODO: \_\_\_\_\_ VIA ADMINISTRACION: \_\_\_\_\_

SEXO \_\_\_\_\_ ESPECIE: \_\_\_\_\_ CEPAS: \_\_\_\_\_ EDAD INICIAL: \_\_\_\_\_ **GRUPO: CONTROL TRATAMIENTO CENTINELA**

**PARAMETROS DE TOXICIDAD**

PARAMETRO DE TOXICIDAD	ANIMAL 1						ANIMAL 2						ANIMAL 3						ANIMAL 4						ANIMAL 5					
	D1	D2	D3	D4	D4	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D4	D6	D1	D2	D3	D4	D4	D6	D1	D2	D3	D4	D4	D6
ATAXIA																														
PARALISIS																														
VASO CONSTRICCION PERIFERICA																														
VASO DILATACION PERIFERICA																														
PILO ERECCION																														
SIALORREA																														
TREMORES Y CONVULSIONES																														
DESHIDRATACION																														
DIARREA																														
ACTIVIDAD MOTORA <input type="checkbox"/>																														
REACCION A ESTIMULOS <input type="checkbox"/>																														
OJOS Y MEMBRANAS MUCOSAS <input type="checkbox"/>																														
APARIENCIA PIEL <input type="checkbox"/>																														

CLAVE:

a AUSENCIA p

PRESENCIA

0 NORMAL 1 AUSENTE 2 EXAJERADO

0 NORMAL 1 ENROGECIMIENTO 2 SEQUEDAD 3 EXESIVA HUMEDAD

RESPONSABLE DE LA PRUEBA: \_\_\_\_\_

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL  
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD  
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**ANEXO 3  
HOJA DE OBSERVACIONES POST MORTEN**

PROTOCOLO: \_\_\_\_\_ SUSTANCIA DE ENSAYO: \_\_\_\_\_

CONCENTRACION O DOSIS: \_\_\_\_\_ VIA ADMINISTRACION: \_\_\_\_\_ GRUPO: CONTROL  TRATAMIENTO  CENTINELA

**IDENTIFICACION ANIMAL**

NO. DE JAULA \_\_\_\_\_ NO. DEL /LOS ANIMAL(ES) \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_ ESPECIE: \_\_\_\_\_ CEPA: \_\_\_\_\_ PESO: \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_

MUERTE: PROGRAMADA ( ) NO PROGRAMADA ( ) METODO EUTANASICO: \_\_\_\_\_ FECHA DE NECROPCIA: \_\_\_\_\_

**EXAMEN EXTERNO (EN CASO DE MUERTE NO PROGRAMADA)**

CONDICION CORPORAL BUENA  REGULAR  MALA

OBSERVACIONES \_\_\_\_\_

LESIONES S  NO

DESCRIPCION \_\_\_\_\_

**EXAMEN INTERNO**

ORGANO	SUPERFICIE					CONSISTENCIA					COLOR					TAMAÑO (cm)					PESO (g)				
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5
HIGADO																									
CORAZON																									
PULMONES																									
BAZO																									
RIÑON																									
ESTOMAGO																									
PANCREAS																									
INTESTINO DELGADO																									
INTESTINO GRUESO																									

SUPERFICIE: L. LISA, A. ASPERA, G. GRANULAR, AR. ARRUGADA

CONSISTENCIA: F. FIRME, Q. QUEBRADIZO, E. ESPONJOSO

COLOR: H. HOMOGENEEO, M. MANCHADO

RESPONSABLE DEL EXAMEN: \_\_\_\_\_