RESUMEN

Los efectos analgésicos que posee el extracto etanólico del *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo) fueron estudiados al administrar a los roedores tres dosis del vegetal (50, 100 y 200mg/Kg) por vía oral (v.o), mediante una sonda intragástrica en cinco lotes de seis ratones respectivamente, mostrando distintos comportamientos que fueron medidos mediante las técnicas de el Test de Inmersión de la Cola y el Test del Foco Calorífico. Estas pruebas aplicadas corresponden a las descritas por Ben – Bassat et al. (1959), y por D´Amour y Smith, (1940) respectivamente.

En el caso de la Técnica de Inmersión de la cola se midió el tiempo de tolerancia al calor húmedo aplicado a la porción más baja y sensible de la cola del animal. De las dosis de 50 mg/Kg se obtuvo un efecto analgésico muy intenso de 13,33seg que corresponde al 222% que en comparación con el patrón de referencia (ketorolaco trometamina de 1mg/Kg), fue muy superior. Con las dosis de 100 y 200mg/Kg no ocurrió lo mismo ya que se pudo observar un efecto proporcionalmente significativo en relación con la dosis de 50mg/Kg. ($p < 0,05$)

Mientras que la técnica del foco calorífico que aplica algesia por radiación en donde se expone la porción más baja de la cola del animal al calor emanado por un foco de 60 Watts, no se detectó efecto analgésico debido a que hubo mucha variabilidad entre las tres dosis (50,100, y 200mg/Kg), no detectándose diferencias significativas frente al patrón de referencia (ketorolaco trometamina de 1mg/Kg). ($p < 0,05$)

Palabras claves: efecto analgésico, extracto etanólico, *Cyclospermum leptophyllum*, roedores, técnicas, dosis, ketorolaco.

ÍNDICE

RESUMEN 1
INTRODUCCION 11

CAPITULO 1
INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA
1.1. El Dolor 13
1.1.1 Definición 13
1.1.2. Clasificación del dolor 14
1.1.2.1 Según la localización del dolor 14
1.1.2.1.1. Dolor Somático 14
1.1.2.1.2. Dolor visceral 15
1.1.2.2. Según la fisiología del dolor 15
1.1.2.2.1. Dolor nociceptivo 15
1.1.2.2. 2. Dolor neuropático 15
1.1.2. 3 Según el punto de vista terapéutico 15
1.1.2.3.1 Dolor agudo 15
1.1.2.3.2 Dolor crónico 16
1.1.3. Transmisión del dolor 16
1.1.4. Patogenia del dolor 16
1.2. Analgesia 18
1.2.1. Analgésicos 18
1.2.1.1. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos 19
1.2.1.2. Analgésicos opiodes 20
1.2.1.2.1. Opiodes menores 20
1.2.1.2.2. Opiodes mayores 21
1.3. Ketorolaco 21
1.4 Especies vegetales con potencial analgésico 22

1.5. *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo Simple) 23
1.5.1Clasificación científica 24
1.5.2 Descripción de la planta 24
1.5.3 Propiedades 25
1.5.4Extensión y Distribución 25

CAPITULO 2
MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales 27
2.2. Reactivos 27
2.3. Metodología de trabajo 27
2.3.1. Preparación del extracto alcohólico de *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo) 28
2.3.1.1. Secado de la planta 28
2.3.1.2. Fragmentación y tamizado 29
2.3.1.3. Obtención del extracto por percolación 29
2.3.2. Acondicionamiento de los modelos animales 30
2.3.3. Determinación de la actividad analgésica 31
2.3.4. Técnicas para la determinación del efecto analgésico 32
2.3.4.1. Test de la Inmersión de la cola 32
2.3.4.2 Test del foco calorífico 33
2.3.5 Análisis y cálculos 33

CAPITULO 3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Analgesia térmica 36

3.1.1 Resultados obtenidos en el Test de Inmersión de la cola 36
3.1.1.1 Resultados de las medias aritméticas y desviación estándar 38
3.1.1.2. Comparación de las diferentes dosis del *C. leptophyllum* frente al blanco y al Ketorolaco 38
3.1.1.3. Comparación de cada una de las diferentes dosis del *C. leptophyllum* frente al blanco y al Ketorolaco 38
3.1.2. Resultados obtenidos en el Test del foco calorífico 45
3.1.2.1 Resultados de las medias aritméticas y desviación estándar 47
3.1.2.1. Comparación de las diferentes dosis del *C. leptophyllum* frente al blanco y al Ketorolaco 47
3.1.2.2. Comparación de cada una de las diferentes dosis del *C. leptophyllum* frente al blanco y al Ketorolaco 49
3.2. Análisis estadístico 54

CAPITULO 4
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones 60
4.2. Recomendaciones 62

ANEXOS 63

BIBLIOGRAFÍA 69

UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIÁLGICA DEL *Cyclospermum leptophyllum (*Culantrillo*)* MEDIANTE TÉCNICAS DE INDUCCIÓN TÉRMICA

Tesis previa a la obtención del

Título de Bioquímica Farmacéutica

AUTORAS:

MARIA DEL CISNE CABRERA RODRIGUEZ.

JENNY ELIZABETH CALLE VINTIMILLA.

DIRECTOR:

DR. FAUSTO ZARUMA TORRES

CUENCA – ECUADOR

2009

AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer en primer lugar a DIOS que con su guía pudimos cumplir esta meta y a nuestros padres, quienes con su amor, sacrificio, paciencia, dedicación y enseñanzas nos han guiado durante toda nuestra vida, depositando su confianza e ilusiones en nosotras.

Nuestros sinceros agradecimientos al Doctor Fausto Zaruma T., quien a mas de haber sido nuestro Director de Tesis, fue y es un muy buen amigo y que por su paciencia, comprensión y dedicación supo dirigirnos y apoyarnos de manera incondicional, en la realización y culminación de este trabajo.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas, a nuestros distinguidos maestros quienes con sabiduría y entrega, supieron guiarnos durante toda nuestra etapa universitaria.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron para la realización de este trabajo.

JENNY Y MARIA DEL CISNE

DEDICATORIA:

Dedico este trabajo a mi padre, a mi madre y a mis hermanos quienes han sido un apoyo muy importante en mi vida y de manera muy especial a una persona que ha sido mi ángel, mi compañera, mi mejor amiga y un ejemplo de mujer a seguir; a tí MADRE te dedico esta tesis porque gracias a tí pude cumplir esta meta tan grande y de la que te voy agradecer el resto de mi vida; también le dedico a una persona muy querida, que con su amor, paciencia y apoyo me ayudó a sacar adelante esta trabajo a ti Darío muchas gracias por todo.

JENNY

DEDICATORIA:

Esta Tesis va dedicada a mis padres Ismael y Rosa que con afán y sacrificio hicieron posible la culminación de esta etapa estudiantil para un futuro mejor y que siempre pondré al servicio de la verdad y la justicia, a mis hermanos, sobrinas y mi novio que me ha apoyado en cada uno de mis logros.

MARIA DEL CISNE

INTRODUCCION

El presente trabajo aborda la investigación de las propiedades analgésicas presentes del ***Cyclospermum leptophyllum*** **(Culantrillo),** mediante técnicas físicas aplicada a modelos animales en busca de una posible actividad farmacológica analgésica.

Se conoce que esta materia vegetal es una planta que ha sido utilizada desde la antigüedad por varias comunidades andinas y particularmente por la etnia Saraguro, gracias a que presenta propiedades fármaco activas: analgésica, antiinflamatoria, antieméticas y antibacteriana. .

Para el efecto se planteó el objetivo que fue el determinar la actividad analgésica del *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo) en modelos animales, mediante dos técnicas por inducción térmica. Se supone que al administrar a los ratones los principios activos del extracto alcohólico del *C. leptophyllum*; las pruebas revelarán si existe o no una actividad analgésica y si es capaz de neutralizar un estímulo doloroso.

Para la determinación farmacológica analgésica se utilizaron técnicas térmicas; la una, con aplicación de calor húmedo(conocida como test de Inmersión de la cola) **Ben-Bassat (1995)** y la otra inducida por calor radiante

(conocida como test del Foco calorífico) **D´Amour y Smith (1940)** que midieron el grado de tolerancia luego de la aplicación del extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo) que fue evaluado a partir de la media hora de su administración hasta las 6 horas en el caso de la Inmersión de la cola, y hasta las 2 horas en el caso del Foco calorífico.

En cada técnica se empleó extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* confrontado con un patrón de ketorolaco trometamina de 1mg/Kg, en donde mediante comparación se postuló la siguiente hipótesis: el efecto analgésico obtenido con cada una de las dosis de 50, 100 y 200mg/kg del vegetal es similar o mayor al del ketorolaco.

CAPITULO 1

REVISION BIBLIOGRAFICA

1.1. EL DOLOR

Se manifiesta de manera normal en la vida cotidiana y se presenta como una función defensiva. Cuando su intensidad es mayor puede disminuir de manera significativa la calidad de vida. (Rang H. P, y col., 2004), (Basbaum AI, 1999)

1.1.1DEFINICION

La International Association for the Study of Pain (IASP), define el dolor como:

"*Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con un daño tisular real o potencial o descrito por el paciente en términos de la misma*¨. (BARZALLO Sacoto y col.1995), (Alvares D y col., 1999)

1.1.2 CLASIFICACION DEL DOLOR

1.1.2.1SEGÚN LA LOCALIZACION DEL DOLOR

1.1.2.1.1 DOLOR SOMATICO

Producido por la activación de los receptores celulares (nociceptores) que se encuentran en la piel, hueso y partes blandas. Se presenta como un dolor amortiguado, continuo y con localización específica. (*Ray,* S. 1984)

1.1.2.1.2 DOLOR VISCERAL

Originado por la activación de nociceptores por introducción, compresión, distensión, tracción o isquemia de vísceras pélvicas, abdominales o torácicas. (*Ray,* S. 1984), (Laurence M, 1995)

1.1.2.2 SEGÚN LA FISIOLOGIA DEL DOLOR

1.1.2.2.1 DOLOR NOCICEPTIVO

Es el producido por una estimulación de los nociceptores, es decir los receptores del dolor, provocando

que el "mensaje doloroso" sea transmitido a través de las vías ascendentes hacia los centros supraespinales y sea percibido como una sensación dolorosa. Por ejemplo un pinchazo. (Rang H. P, y col., 2004)

1.1.2.2.2 DOLOR NEUROPATICO

Es una enfermedad que afecta el sistema nervioso central, en especial a la vía sensitiva produciendo un dolor que varia de intensidad, puede ser desde leve hasta severo y suele ser un dolor continuo. (Rang H. P, y col., 2004), (Wilson P.1995)

1.1.2.3 SEGÚN EL PUNTO DE VISTA TERAPEUTICO

1.1.2.3.1 DOLOR AGUDO

Dolor de corta duración, fácilmente identificable, originado normalmente fuera del cerebro y procesado e interpretado por parte del sistema nervioso central. Este tipo de dolor anticipa un daño actual o próximo el cual responde bien a los analgésicos y por lo tanto su duración es limitada. (Janssen-Cilag 2001-2007)

1.1.2.3.2 DOLOR CRONICO

Generalmente es independiente de la causa que lo originó. Es posible que la causa del dolor ya no exista, pero que los nervios sobreexcitados sigan informando al cerebro la existencia del dolor. ((Janssen-Cilag 2001-2007), (Coni N, y col., 1990)

1.1.3TRANSMISION DEL DOLOR

El dolor es originado por un estímulo de receptores presentes en la piel o tejidos profundos. Existen dos tipos de nociceptores, fibras A-delta y C que pueden responder a estímulos térmicos, químicos o mecánicos.

Cuando existe una lesión en un tejido, se produce una liberación de varias sustancias químicas como histaminas, prostaglandinas y bradiquidinas produciendo señales químicas que no sólo estimulan el receptor de dolor, sino que también lo hacen hipersensible para futuros estímulos.

En el dolor el receptor primario se comunica con la médula espinal a través de raíces nerviosas produciéndose sinapsis con otras neuronas antes que el estímulo doloroso ascienda hacia el tálamo y cerebro. (AGS Panel on Chronic Pain in Older Persons, 1998)

1.1.4PATOGENIA DEL DOLOR

El metabolismo de fosfolípidos de membrana celular genera ácido aranquidónico que en contacto con la ciclooxigenasa origina la producción de prostaglandinas y tromboxanos . El efecto analgésico de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhibe la síntesis de prostaglandinas bloqueando a la ciclooxigenasa, el bloqueo producido por los salicilatos es irreversible, mientras que el del resto de los AINEs es reversible. Hay evidencia creciente que un mecanismo analgésico central, independiente de las acciones antiinflamatorias, se sumaría a los efectos periféricos descritos; este mecanismo comprendería la inhibición de la actividad neural inducida por aminoácidos o quininas y explicaría la disociación entre la acción analgésica y la acción antiinflamatoria de algunos AINES. (Dagnino J, y col., 1994)

1.2 ANALGESIA

La palabra analgesia etimológicamente proviene de griego *a-carencia:* negación y *algos:* dolor.

Por lo que se la define como la falta o supresión de toda sensación dolorosa, sin pérdida de los restantes modos de la sensibilidad. Es decir una condición en la cual se perciben los estímulos nociceptivos pero no se interpretan como dolor, generalmente va acompañada de sedación sin pérdida de la conciencia. (Yeager MP, y col., 1987)

Existen cuatro tipos de analgesia:

- Analgesia sistémica
- Analgesia locoregional
- Analgesia peridural y espinal
- Analgesia preventiva

1.2.1ANALGESICOS

Los analgésicos son fármacos que reducen o alivian los dolores como cefalea, de tipo muscular, artríticos y muchos otros dolores. Existen muchos tipos diferentes de

analgésicos y cada uno tiene sus ventajas y riesgos. Algunos tipos de dolor responden mejor a determinadas medicinas que a otras. Además, cada persona puede tener una respuesta ligeramente distinta a un analgésico.

1.2.1.1 ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) actúan inhibiendo a unas enzimas llamadas ciclooxigenasas, importantes en la producción de prostaglandinas, sustancias mediadoras del dolor.

Además de poseer propiedades analgésicas, poseen propiedades antipiréticas, y algunos son antiagregantes plaquetarios como es el caso de los salicilatos. Tienen el inconveniente de que no se puede superar una dosis de tolerancia o techo terapéutico debido a los graves efectos adversos como es la hemorragia digestiva. (Ray, S. 1984)

Dentro de este grupo de AINES se encuentra el **ketorolaco** que es un derivado heterocíclico del ácido acético. (Samaniego E, 1999)

1.2.1.2 ANALGÉSICOS OPIOIDES

Presentan un rango de eficacia más amplio en comparación con el resto de analgésicos, proporcionando un alivio rápido del dolor de intensidad moderada-severa. El efecto analgésico de los opiáceos se produce a través de su acción sobre el sistema nervioso central. La mayor parte de los analgésicos opioides actúan a nivel del mismo receptor para opiáceos diferenciándose principalmente en aspectos tales como su potencia, velocidad de inicio de su acción, duración del efecto y vías de administración. (Ray, S. 1984)

1.2.1.2.1 OPIOIDES MENORES

Son frecuentemente usados en pacientes con dolor leve-moderado que no se controla con el uso de opiáceos así como son de utilidad frente al ácido acetilsalicílico (ASA) y AINEs cuando se quiere evitar el efecto gastrolesivo o antipirético. Constituyen el segundo escalón analgésico en la escala de la Organización Mundial de la Salud (OMS), siendo los más representativos la *codeína* y la *hidrocodeína*. (Ray, S. 1984) (ANEXO 1)

1.2.1.2.2 OPIOIDES MAYORES (NARCÓTICOS)

Constituyen el tercer escalón analgésico en la escala de la OMS. Son de elección en pacientes con dolor leve-moderado que no se controla con fármacos del segundo nivel y en pacientes con dolor grave en cualquier momento. Su principal representante es la morfina. (Ray, S. 1984)

1.3 KETOROLACO

El ketorolaco es un AINE derivado heterocíclico del ácido acético con potente acción analgésica pero moderada acción antiinflamatoria. Sus presentaciones son: comprimidos de 10, 20mg, y ampollas de 30mg/1ml y 60mg/2ml

Su mejor efecto se ve en dolores nociceptivos y con un importante componente inflamatorio, como dolor post-operatorio, dolor por trauma o quemaduras, su biodisponibilidad es próxima al 100%, metabolizándose en el hígado y eliminándose en un 90% por vía renal. Para el tratamiento se recomienda una dosis inicial de 30-60mg por vía IV o IM y este no debe exceder los cinco días. Se contraindica en insuficiencia renal y hepática, embarazo o

lactancia, entre sus principales efectos adversos pueden presentarse molestias gastrointestinales (náuseas, dispepsias, malestar abdominal y diarrea) somnolencia, mareo y rara vez cefalea. No se recomienda su empleo asociado a otros AINEs por que pueden incrementar los niveles del ketorolaco. (THOMSON, 2004-2005)

Este patrón fue utilizado por su potente acción analgésico, tal como lo reveló en su trabajo de investigación Granadillo et al (2001) en el que se demostró tener mucho ventaja terapéutica en el uso del dolor postrauma quirúrgico , y en Cirugía Ginecológica (Histerectomía Abdominal) que indica que se trata de un medicamento con una actividad muy intensa. Es más en la publicación de Cade et al y Eriksson (1995) determinaron que al comparar al ketorolaco vs ketoprofeno(uno de los AINEs más potentes), llegó a concluir que este agente superó en analgesia al ketoprofeno. (G Granadillo, y col., 2001), (Gillis J., 1997)

1.4 ESPECIES VEGETALES CON POTENCIAL ANALGESICO

Existe una gran variedad de familias de plantas con potencial analgésico entre estas tenemos a las

pertenecientes a la familia Apiaceae en donde podemos encontrar a:

- *Apium graveolens* (apio)
- *Coriandrum sativum* (cilantro o culantro)
- *Foeniculum vulgare* (hinojo)
- *Pimpinella avisum* (anís)
- *Petroselinum crispum* (perejil)
- *Cyclospermum leptophyllum* (culantrillo) (de la Torre, L., y col., 2008.)

1.5 *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo)

Esta planta ha sido utilizada por las comunidades aborígenes andinas del paramo Ecuatoriano, para tratar dolores de moderada intensidad, quienes utilizaban la planta en forma de infusión, cocimiento y tópica, mediante la aplicación de toda la planta y especialmente sus hojas, cubriendo completamente el sitio de la lesión. A esto se suman otras propiedades tales como antieméticas, antibacteriano y antiinflamatorias. (de la Torre, L., y col., 2008.), (ANEXO 2)

1.5.1CLASIFICACION CIENTIFICA

Nombre común: Culantrillo

Nombre científico: ***Cyclospermum leptophyllum***

Clasificación científica

Orden: Apiales

Familia: Apiaceae

Género:*Cyclospermum*

Especie: *leptophyllum*.

Sinónimos: *Apium leptophyllum, Apium Ammi, Helosciadium leptophyllum*

1.5.2DESCRIPCION DE LA PLANTA

Se trata de una planta anual, delgada, muy ramificado, erguida, que mide entre 5-60 cm de altura. Sus hojas oblongo-ovales, tienen dimensiones de 3,5-10 cm de largo, y 3.5-8 cm de amplio, descompuesta de divisiones filiformes finales, 1.5-7 mm de largo, 0,5-1 mm amplia. Los pecíolos pueden medir 2.5 a 11 cm de largo, envainados con un margen escarioso. Umbelas simples o compuestos, pedúnculo o sésil, por lo general más de 10 flores. Con un cáliz dentado evidente; pétalos ovalados, agudos, pero sin un ápice inflexo; estilos más cortos que stylopodium. Pedicelos delgados, 2,5-16mm de largo. Carpóforo bífido.

Frutos orbicular-lanceoladas a ovoide, 1,2-3mm de largo, 1,5-2 mm amplia, las costillas filiformes, evidentes. (MILDRED E. MATHIAS y col., 1976) (ANEXO 2)

1.5.3PROPIEDADES

Posee algunos principios activos entre la que encontramos la oleo-resinas y su principal aceite esencial que es el apiol así como también alcaloides, almidón, aminoácidos, taninos, triterpenos y flavonoides.

Se usa la infusión y decocción de la planta para calmar el **dolor de estómago**, como emenagogo, para lavar ojos, úlceras, heridas, **cólicos,** limpiados (antiséptica), y **dolor molar**, se cita la infusión de las semillas como excitante, antiemético, contra el hipo y carminativo (de la Torre, L., y col., 2008).

1.5.4EXTENSIÓN Y DISTRIBUCIÓN

Especie propiamente Andina, pues habita en los pajonales de nuestras cordilleras o en las inmediaciones de las mismas.

Hábitat: Entre medio de árboles, de pastizales, tierra húmeda, ocupando las riberas de los ríos y arroyos. (de la Torre, L., y col., 2008).

CAPITULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2. 1 MATERIALES

- Ratones Machos Swiss Albinos de 20 a 30 g.
- Jaulas de metal
- Balanza BOECO Capacidad 1500g, Sensibilidad 0.13, Modelo BBL 63,
- Balanza analítica METTLER PE 6
- Foco de 60 W Osram
- Baño María NEW LINE (37ºC)
- Cámara digital W120 SONY
- Jeringa de Insulina (1 ml)

2.2 REACTIVOS

- Alcohol al 70% **-PRODUCARGO**
- Cloroformo **-J.T Baker. PA.**
- Suero Fisiológico (NaCl al 0,9%) Fisiol-UB
- Ketorolaco en ampollas de 60mg/2ml. Dolgenal® **-** Tecnofarma Quito- Ecuador

2.3 METODOLOGIA DE TRABAJO

2.3.1 PREPARACION DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo)

Para la obtención del extracto se realizaron pruebas de control de calidad que estuvo a cargo de la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca (DIUC) las mismas que revelaron la ausencia de microorganismos patógenos asegurando una confiabilidad para el inicio de la investigación.

2.3.1.1 SECADO DE LA PLANTA

El secado con aire forzado, es un método muy utilizado, ya que permite un secado rápido de la materia prima, evitando la contaminación que podría surgir al desecar al aire libre; además presenta la ventaja de que al ser controlada la temperatura (no más de 40ºC) no se evaporarán las sustancias volátiles de la planta si es que existieran en ella.

2.3.1.2 FRAGMENTACION Y TAMIZADO

La fragmentación es un proceso mecánico donde se reducen sustancias sólidas a porciones menores o partículas. El objeto principal de este paso es el aumentar la superficie de contacto de un solvente adecuado con el material a extraer, es decir que el solvente penetre en todas las grietas, poros y células para facilitar la mejor y mayor disolución de principios activos. El material seco puede ser fragmentado con tijeras, morteros o molido en molinos especiales o con solvente en licuadoras adecuadas.

Luego para homogeneizar el tamaño de partícula se pasa por un tamiz de 0.2 a 0.5 mm de diámetro. Una vez así obtenido el material vegetal se guarda en frascos secos y etiquetados y protegidos de la luz para evitar descomposición.

2.3.1.3 OBTENCION DEL EXTRACTO POR PERCOLACION

Este método consistió en extraer el principio activo mediante un solvente orgánico adecuado para mantener los compuestos termolábiles que pudiera contener el

material. El método se realizó colocando el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico, y haciendo pasar un disolvente (alcohol etílico 96º) a través del mismo, dejar en reposo durante 24-48 horas y se procedió a percolar a XX /min hasta agotamiento de principios activos. (ANEXO 3) **(**GENNARO, Alfonso R., 1987)

2.3.2 ACONDICIONAMIENTO DE LOS ANIMALES

Para la investigación se utilizaron 60 ratones machos swiss albinos los cuales se obtuvieron del bioterio del Instituto Nacional de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez de la ciudad de Guayaquil, de aproximadamente 40 días, con pesos comprendidos entre 20 y 30 gramos; los cuales se mantuvieron en condiciones estándares de laboratorio garantizándoles alimentación diaria, ciclos de luz y oscuridad, aporte de agua *ad libitum*; bajo condiciones de temperatura de 20 ± 5 ºC y humedad relativa de 94%. Antes de las pruebas, un lote de 6 animales se confinaron en jaulas de metal con limpieza y remoción permanente de sus desechos y se mantuvieron en el laboratorio de farmacología experimental del Instituto Tecnológico de la Facultad de Ciencias Químicas, durante 15 días antes de las pruebas de estabilidad fisiológica. (ANEXO 4)

Los animales a ensayar fueron marcados y se los pesó para obtener un nivel de aceptación ponderal comprendido entre 20 y 30 gramos, empleándose para el efecto una balanza analítica.

2.3.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA

La actividad analgésica de una sustancia se puede determinar mediante pruebas antinociceptivas que se basan en la aplicación de un estimulo doloroso (algésico) y la aparición de cambios visibles en la conducta del animal. No se puede asegurar que el animal tenga la misma sensación dolorosa que el ser humano.

La mayor parte de los métodos consisten en la aplicación al animal de un estímulo nociceptivo de intensidad conocida. Dichos estímulos suelen ser de tipo mecánico, eléctrico, químico y en este caso se utilizó el de inducción térmica. (CYTED, 1995), (Gupta MP, 1995)

2.3.4 TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO

2.3.4.1TEST DE LA INMERSIÓN DE LA COLA

Se realizó la técnica descrita por Ben – Bassat et al. (1959), que tiene como ventaja el hecho de que se puede utilizar el mismo animal para varias determinaciones, ya que el tiempo de latencia no se altera por la exposición repetida del estímulo.

Protocolo Experimental

Se utilizaron 5 lotes de 6 roedores, cada uno distribuidos de la siguiente manera: un lote para el blanco de solución salina, otro para el patrón de ketorolaco trometamina y tres lotes para las diferentes concentraciones del extracto de 50, 100, 200 mg/Kg. Esta técnica consiste en introducir la porción más baja y sensible de la cola del roedor (2 - 2.5 cm) en un Baño María cuya temperatura debe ser de 55°C ± 0,5°C. A cuya estimulación dolorosa el roedor reacciona recogiendo y retirando la cola en pocos segundos. El tiempo de reacción es de 0.5 unidades de segundo, después de cada determinación, la cola debe ser secada cuidadosamente.

El tiempo de reacción se determina antes y después de cada administración oral de un volumen de 0,5ml del extracto alcohólico mediante el uso de una sonda intragástrica de todas las substancias. La observación individual de cada ratón fue evaluada en un cronograma comprendido en la siguiente secuencia: 0.5, 1, 2, 4 y 6 horas. El tiempo de corte de la inmersión es de 15 segundos.

Según Ben – Bassat et al, el tiempo de recogimiento de la cola de un animal sin tratamiento, varía entre 1 y 5.5 segundos. Por tanto un tiempo de recogimiento de más de 6 segundos, se considera como una respuesta positiva. (CYTED, 1995), (ANEXO 5)

2.3.4.2 TEST DEL FOCO CALIENTE

El método que se empleó es el descrito por D´Amour y Smith, que consiste en exponer la porción más baja de la cola del ratón al calor emanado por un foco de 60 watts. Esta técnica evalúa la actividad antiálgica severa.

Protocolo Experimental

Para el efecto se utilizaron 5 lotes de 6 roedores, distribuidos de la siguiente manera: un lote para el blanco de solución salina, otro para el patrón de ketorolaco trometamina1mg/Kg y tres lotes para las diferentes concentraciones del extracto de 50, 100, 200 mg/kg. En esta técnica se administra al roedor por vía oral un volumen de 0,5ml de los extractos mediante una sonda intragastrica. Se procede acercar la cola del animal a una distancia aproximada de 10cm a un foco calorífico, determinándose el tiempo de resistencia y tolerancia al dolor causado por la energía calórica; donde el roedor responde inmediatamente con inquietud y retiro de su cola.

Los períodos de observación fueron a los 30, 60 y 120 minutos posteriores a la administración de cada una de las dosis del extracto así como del blanco y patrón. (CYTED, 1995), (ANEXO 6)

2.3.5 ANALISIS Y CALCULOS

El cálculo del porcentaje de analgesia se realiza según la siguiente ecuación:

$$\%A = \frac{X_{problema} - X_{control}}{X_{control}} \times 100$$

Donde $X_{problema,}$ es la media aritmética de los tiempos en segundos que resiste el grupo tratado y $X_{control}$ la media aritmética de los segundos que resiste el grupo no tratado.

Además se procedió a realizar las determinaciones de la comparación estadística mediante el test de student, utilizando el programa de Microsoft Excell 2007.

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 ANALGESIA TÉRMICA

3.1.1 RESULTADOS OBTENIDOS DE LA ANALGESIA TERMICA- TEST DE INMERSION DE LA COLA

TEST DE LA INMERSION DE LA COLA							
PESO DEL RATÓN		DOSIS	TIEMPO DE RESISTENCIA (Segundos)				
HORAS			0.5	1	2	4	6
SUERO FISIOLOGICO							
1	25g	0.1ml	1,59	2,04	2,12	1,80	0,8
2	28g	0.1ml	2,31	2,93	4,00	6,00	1,31
3	23g	0.1ml	2,24	3,86	3,62	2,68	2,26
4	28g	0.1ml	1,53	1,32	1,37	1,93	0,87
5	24g	0.1ml	4,17	4,09	2,81	5,39	2,51
6	24g	0.1ml	4,09	4,76	4,07	5,10	1,87
KETOROLACO							
7	26g	1mg/kg	1,53	2,29	3,61	4,00	1,37
8	28g	1mg/kg	1,12	1,80	1,78	1,75	2,29
9	25g	1mg/kg	2,58	2,15	1,89	3,09	2,61
10	25g	1mg/kg	2,51	4,39	2,18	3,42	2,28
11	25g	1mg/kg	2,15	1,59	2,46	2,26	2,1
12	24g	1mg/kg	1,90	1,17	1,18	1,43	1,5

EXTRACTO							
13	24g	50mg/kg	4,40	9,00	10,30	7,20	4,7
14	24g	50mg/kg	7,20	11,40	13,70	8,50	3
15	28g	50mg/kg	10,50	12,10	14,50	9,90	10,4
16	29g	50mg/kg	8,30	11,70	14,40	10,00	8,9
17	26g	50mg/kg	10,30	12,60	13,80	11,10	8,6
18	27g	50mg/kg	9,50	12,50	13,30	4,50	3,6
EXTRACTO							
19	25g	100mg/kg	1,90	2,30	4,00	3,80	5,1
20	28g	100mg/kg	1,70	2,00	3,70	3,20	4,2
21	25g	100mg/kg	2,40	2,60	3,10	2,80	3,9
22	26g	100mg/kg	1,80	2,00	3,30	2,50	2,3
23	26g	100mg/kg	3,00	3,30	4,00	3,80	1,8
24	26g	100mg/kg	3,10	3,50	4,10	3,70	2,7
EXTRACTO							
25	24g	200mg/kg	2,50	2,80	3,00	2,70	1,5
26	24g	200mg/kg	2,30	4,20	6,90	5,10	4,8
27	28g	200mg/kg	3,00	3,10	3,90	3,20	9,8
28	24g	200mg/kg	2,20	2,80	3,60	3,00	3,8
29	24g	200mg/kg	2,10	3,00	3,80	2,90	4,2
30	31g	200mg/kg	2,80	3,50	4,20	3,50	5,1

Tabla 1. Resultados obtenidos del test de inmersión de la cola

3.1.1.1 RESULTADOS DE LAS MEDIAS ARITMETICAS Y DESVIACION ESTANDAR

Las determinaciones de la resistencia a la incidencia dolorosa del calor en la parte más sensible del roedor fueron medidas durante las 6 horas de ensayo, en donde se obtuvieron los siguientes resultados promedios con sus estimaciones de dispersión dadas por la desviación estándar. Dichos valores se recogen en la tabla 2.

TEST DE INMERSIÓN DE LA COLA					
MEDIAS ARITMÉTICAS ± DESVIACIÓN ESTANDAR					
TIEMPO (horas)					
SOLUCIONES ENSAYADAS	**0,5**	**1**	**2**	**4**	**6**
SOL. SALINA	2,66±1,19	3,17±1,31	3,00±1,10	3,82±1,89	1,60±0,72
KETOROLACO	1,97±0,57	2,23±1,13	2,18±0,82	2,66±1,01	2,03±0,49
EXTRACTO 50mg/Kg	8,37±2,31	11,55±1,33	13,33±1,55	8,53±2,59	3,33±1,27
EXTRACTO 100mg/Kg	2,32±0,62	2,62±0,65	3,70±0,41	3,30±0,56	3,33±1,27
EXTRACTO 200mg/Kg	2,48±0,35	3,23±0,54	4,23±1,37	3,40±0,88	4,87±2,73

Tabla 2. Media aritmética y desviación estándar de los resultados obtenidos de los tiempos de Inmersión de cola.

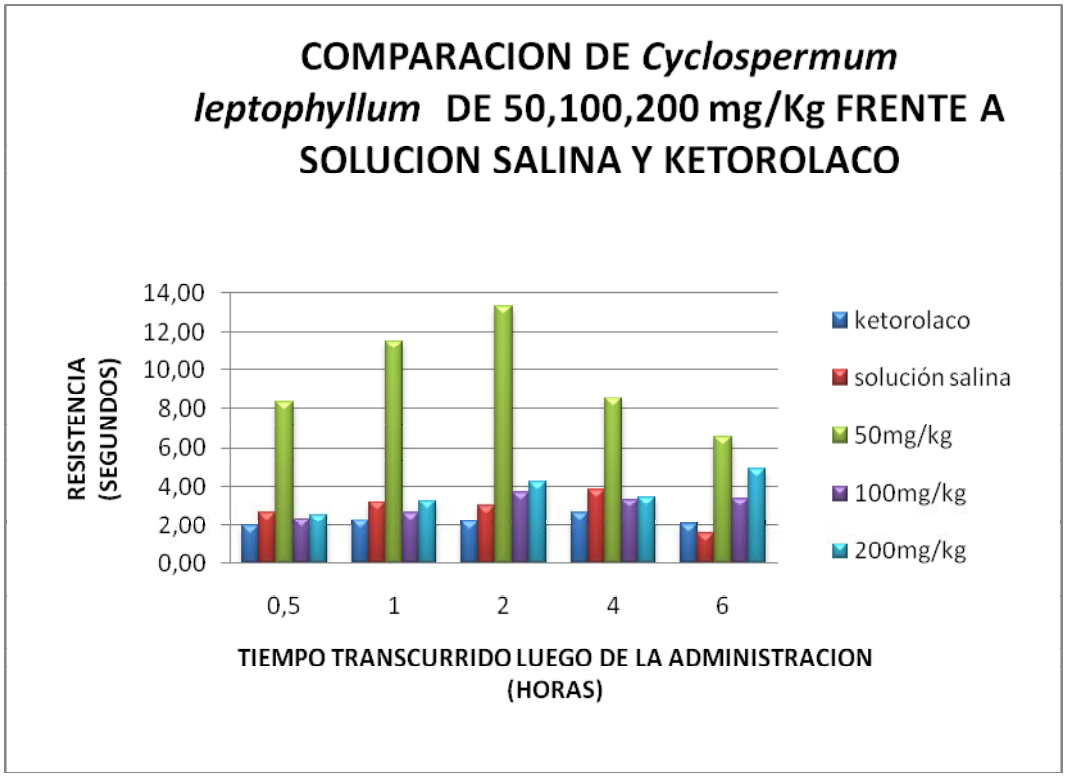


Figura 1. Test de Inmersión de la cola de las 3 dosis aplicadas frente a blanco (solución salina) y patrón (ketorolaco) que indica su evolución en horas.

Analizando la figura 1 se puede observar que a la dosis de 50 mg/kg del extracto de *Cyclospermum leptophyllum*, existe un aumento del efecto analgésico a los 30, 60 y 120 minutos con un decrecimiento del mismo a las 240 y 360 minutos, notándose que a esta concentración hay un mayor tiempo de resistencia en el roedor frente a la dosis de 100 y 200 mg/kg, las cuales presentan mucha variabilidad en la respuesta. Según estos datos obtenidos se evidencia que el efecto analgésico del *C. leptophyllum* es mejor a la menor de las dosis administradas; en donde a

dosis más elevadas no demostraron un efecto apreciable. (Vanaclocha B, Cañigueral S, Vila R, Risco E, Pérez F, Portillo A, et al. Ulmaria, 2003).

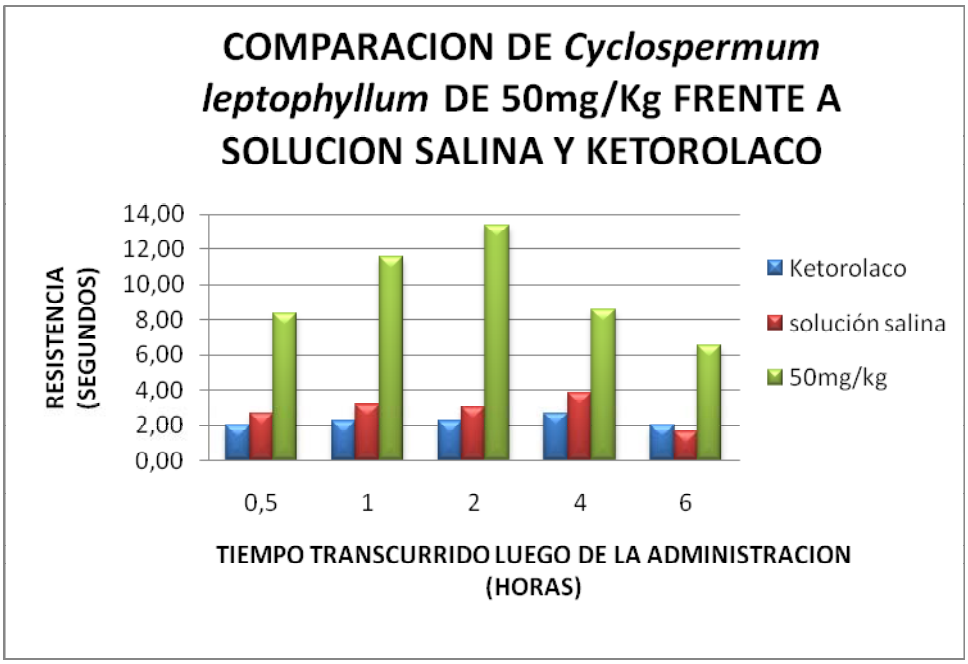


Figura 2. Test de la Inmersión de la cola con la dosis de 50mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas

Realizando el análisis se pudo determinar que con la dosis de 50mg/kg los animales presentaron una buena protección, existiendo un comportamiento muy importante desde el primer periodo de la administración alcanzando un nivel máximo a las dos horas y disminuyendo su intensidad durante la cuarta y sexta hora. Según la tabla anterior se destaca un comportamiento bastante importante con la

dosis de 50mg/kg que se inicia a la media hora de su administración , alcanzando un nivel máximo a las 2 horas , siendo este valor promedio de 13,33, posteriormente el efecto de cobertura analgésica se muestra disminuido de manera proporcional en las 4 horas y decrece a un valor inferior 4 segundos de resistencia a la última observación; no obstante, si se compara con el patrón de referencia (ketorolaco trometamina) mantiene un marcado efecto superior al obtenido con éste; que corresponde al 222%.

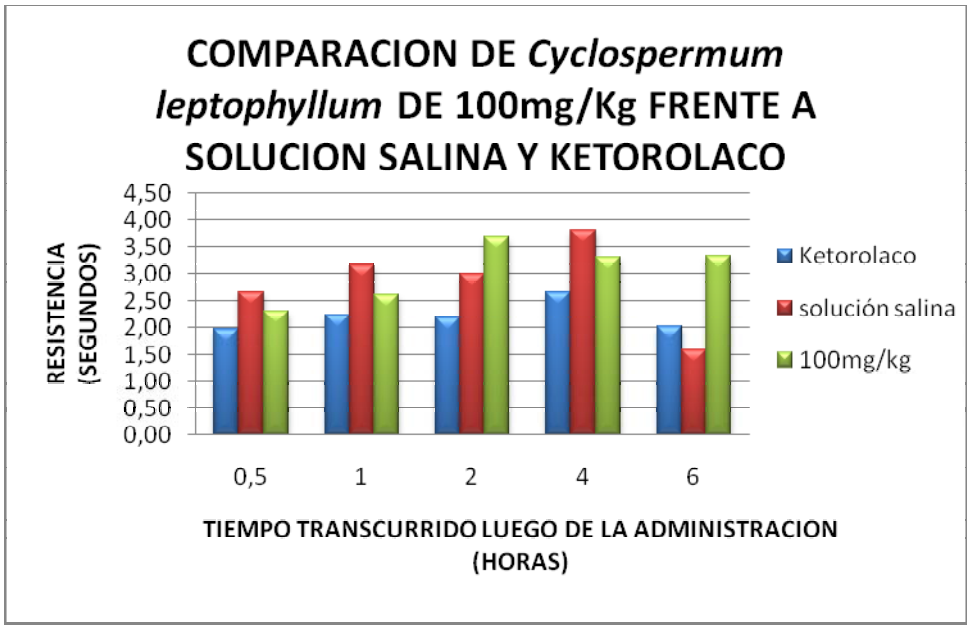


Figura 3. Test de la Inmersión de la cola con la dosis de 100mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas.

El comportamiento presentado con la dosis de 100mg/kg fue similar al de la primera dosis observándose el primer efecto de analgesia a las 2 horas de la administración al roedor, con una pequeña disminución a las 4 horas aumentando nuevamente a las 6 horas. Este comportamiento atípico probablemente pudo deberse a la aparición de un marcado proceso de biotransformación y aclaramiento activo que hizo disminuir la tasa de droga en la biofase. Si se hace una comparación con el patrón (ketorolaco) no fue significativo en las 3 primeras horas de administración y a partir de las 4 horas aumenta el efecto protector buscado, el cual podría deberse a un posible estado de recuperación enzimática y/ o reciclaje enterohepático. (THOMSON, 2004)

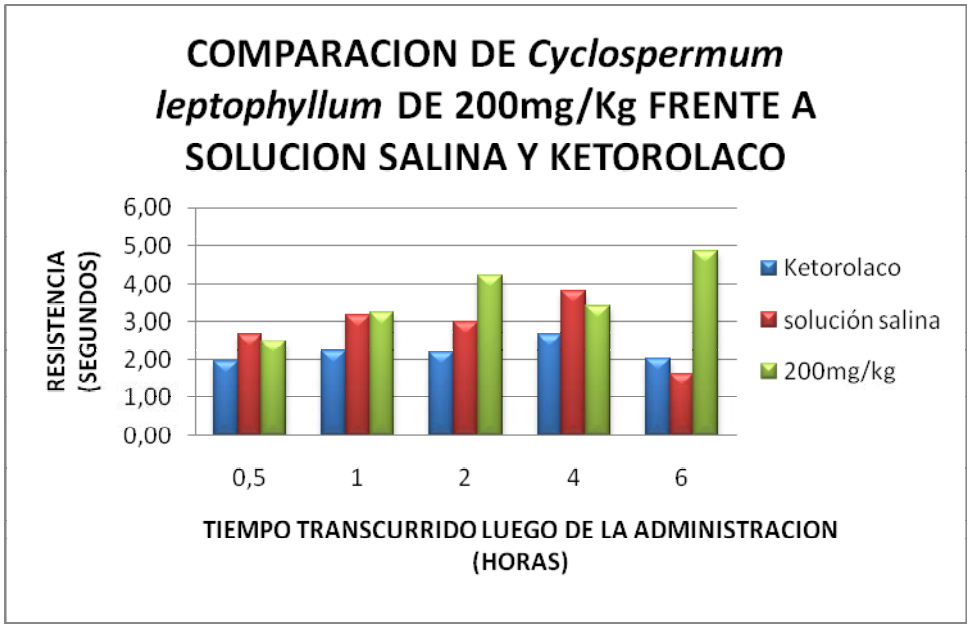


Figura 4. Test de la Inmersión de la cola con la dosis de 200mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas

Igual que con la técnica anterior, se llego a determinar que el efecto farmacológico con la dosis de 200mg/Kg los animales tuvieron una leve protección, sin embargo al compararlo con el patrón de referencia (ketorolaco) se observa un mayor tiempo de resistencia al agente algésico indicando que existe un considerable efecto analgésico del *C. leptophyllum* tal como se muestra en la figura 4 donde comienza un aumento a los 30 minutos hasta las 2 horas luego de su administración, disminuyendo en una pequeña proporción a las 4 horas, siendo su mayor aumento a las 6

horas. Según lo encontrado es posible que este comportamiento se explique gracias a un proceso farmacocinético y farmacodinámico, donde probablemente hubo la presencia de metabolitos activos presentes en la planta o autoinducción enzimática propia de los animales tratados.

3.1.2 RESULTADOS OBTENIDOS DE LA ANALGESIA TERMICA- TEST DEL FOCO CALORIFICO

TEST DEL FOCO CALORÍFICO					
PESO DEL RATÓN		**DOSIS**	**TIEMPO DE RESISTENCIA (Segundos)**		
HORAS			**0.5**	**1**	**2**
SUERO FISIOLOGICO					
1	25g	0.1ml	8,1	5,81	5,65
2	28g	0.1ml	12,63	9,81	7,06
3	23g	0.1ml	6,38	6,8	5,76
4	28g	0.1ml	8,59	8,46	6,57
5	24g	0.1ml	7,63	8,05	6,02
6	24g	0.1ml	5,29	6,2	4,89
KETOROLACO					
7	26g	1mg/kg	7,19	8,72	6,96
8	28g	1mg/kg	11,43	9,07	6,34
9	25g	1mg/kg	8,21	6,42	7,57
10	25g	1mg/kg	7,49	7,12	6,09
11	25g	1mg/kg	8,44	5,31	6,26
12	24g	1mg/kg	9,07	8,77	5,55
EXTRACTO					
13	24g	50mg/kg	1,7	2,4	11,3
14	24g	50mg/kg	2,3	3,1	8,1
15	28g	50mg/kg	1,4	3,9	5,6
16	29g	50mg/kg	2,4	4,3	5,9
17	26g	50mg/kg	3,3	5,1	7
18	27g	50mg/kg	2,1	10	12,7
EXTRACTO					

19	25g	100mg/kg	1,4	4,1	7,9
20	28g	100mg/kg	1,9	3,7	5,5
21	25g	100mg/kg	1,2	2,3	5,1
22	26g	100mg/kg	2,9	4,1	9,2
23	26g	100mg/kg	1,2	4,2	8,4
24	26g	100mg/kg	1,1	4,6	12,3
EXTRACTO					
25	24g	200mg/kg	1,1	4,1	5,9
26	24g	200mg/kg	0,9	4,4	6,1
27	28g	200mg/kg	1,4	3,9	6,7
28	24g	200mg/kg	2	4,6	8,2
29	24g	200mg/kg	1	3,7	7,4
30	31g	200mg/kg	1,7	4,8	5,8

Tabla 3. Resultados obtenidos del test del foco calorífico

3.1.2.1 RESULTADOS DE LAS MEDIAS ARITMETICAS Y DESVIACION ESTANDAR

TEST DEL FOCO CALORIFICO			
MEDIAS ARITMÉTICAS Y DESVIACIÓN ESTANDAR			
HORAS	**0,5**	**1**	**2**
SOL. SALINA	8,10±2,52	7,52±1,52	5,99±0,76
KETOROLACO	8,64±1,52	7,57±1,53	6,46±0,71
EXTRACTO 50mg/Kg	2,20±0,66	4,80±2,71	8,43±2,93
EXTRACTO 100mg/Kg	1,62±0,69	3,83±0,80	8,07±2,64
EXTRACTO 200mg/Kg	1,35±0,43	4,25±0,42	6,68±0,95

Tabla 2. Media aritmética y desviación estándar de los resultados obtenidos del test del Foco calorífico.

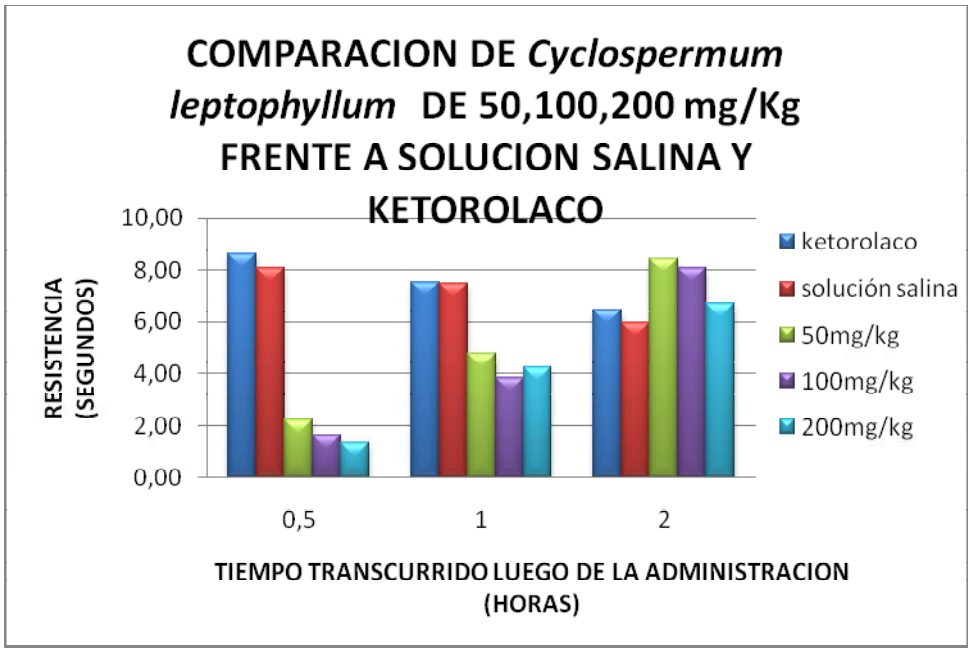


Figura 5. Test del Foco Calorífico de las 3 dosis aplicadas frente a blanco (sol. salina) y patrón (ketorolaco) que indica su evolución en horas

Según la figura 5 que expresa las curvas de evolución del comportamiento analgésico de la planta mediante el test del foco calorífico se puede observar que con la dosis de 50mg/Kg de extracto, se exhibe un mayor tiempo de resistencia al agente algésico por parte de los roedores, determinándose una alza de la analgesia sobre la hora de inoculaciòn, es decir ha habido un tiempo de latencia muy discreto por lo que se puede colegir que el efecto tarda en aparecer, probablemente por procesos de metabolismo hepático. Una actitud evolutiva similar la presentó el vegetal a las dosis de 100 y 200mg/Kg .

Es importante mencionar que esta técnica no se pudo observar que existe el mismo efecto analgésico esperado ya que, por el contrario, los efectos fueron opuestos y no existió una relación dosis-efecto.

Es necesario tomar en consideración que las dosis del extracto etanólico que produjeron reducción en el tiempo de reacción del test del foco calorífico inhibieron notoriamente la conducta exploratoria, lo que puede determinar un efecto aparentemente hiperalgésico.

El extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* pone en evidencia la presencia en la planta de algún principio activo analgésico de tipo periférico y con otras no definidas aún. Esta interpretación esta relacionada con un artículo realizado por Buznego et al, en 2004, realizado en el Instituto de Neurología y Neurocirugía de La Habana Cuba, sobre la conducta exploratoria y pruebas de analgesia donde explica que al realizar la técnica del ácido acético con extractos acuoso y etanólico del *Cestrum nocturnum* obtuvieron resultados concordantes existiendo una clara relación dosis-efecto, mientras que no ocurrió lo mismo con la prueba del plato caliente en la que, por el contrario, los efectos fueron opuestos y no existió una relación dosis-efecto. (Buznego MT, Pérez-Saad H, 2002), (Roig JT, 1988)

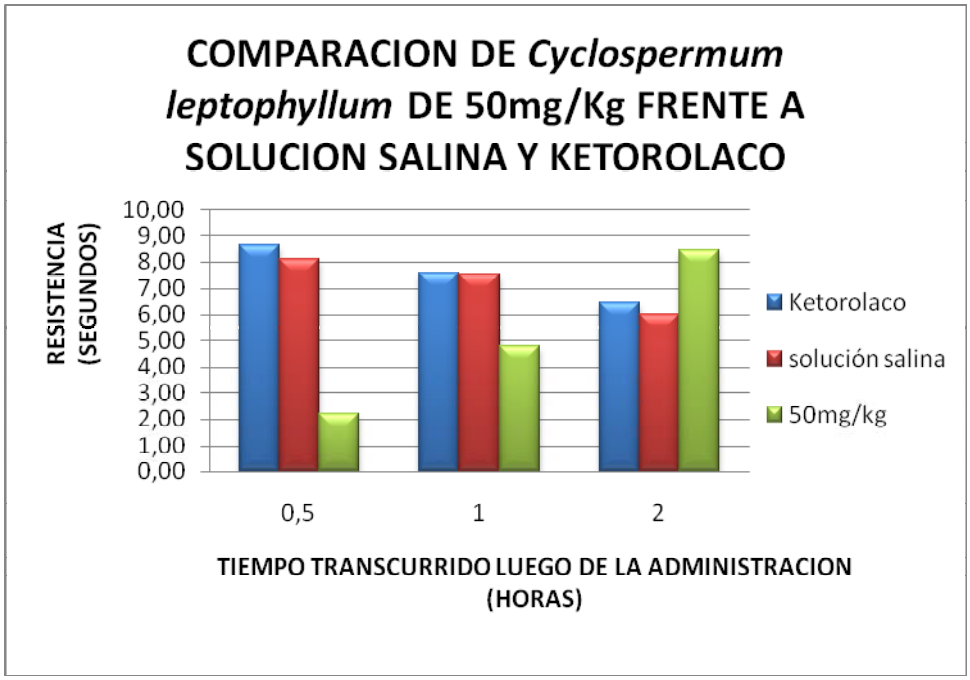


Figura 6. Test del Foco Calorífico con la dosis de 50mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas

Se pudo observar que con la dosis de 50mg/Kg existió un comportamiento muy atípico de la planta, el mismo que incluso disminuye el potencial de resistencia innato del animal, es decir, aparentemente a los primeros 30 minutos vuelve más sensible al animal. Sin embargo a los 60 minutos se recupera la resistencia y tolera mejor la inducción dolorosa, para al final del período de observación (2 horas), se muestra una muy buena neutralización; tan semejante como con el encontrado con el ketorolaco. Sin

embargo, con el mismo patrón de referencia hay un comportamiento muy discreto, ya que a los 60 minutos tiende a disminuir su efecto, tal como se muestra en la curva de descenso evolutivo del patrón. Varias pudieran ser las causas para este comportamiento, como por ejemplo desde el orden farmacocinético hasta farmacodinámico. Así en algunos casos, la conducta farmacocinética implicaría evidentemente que los sistemas o mecanismos generen una baja biodisponibilidad y / o un incremento importante del ejercicio de excreción, lo cual estaría por comprobarse. Con esta dosis no se pudiera colegir la presencia de un importante efecto analgésico, ya que faltaría más sustento experimental y científico.

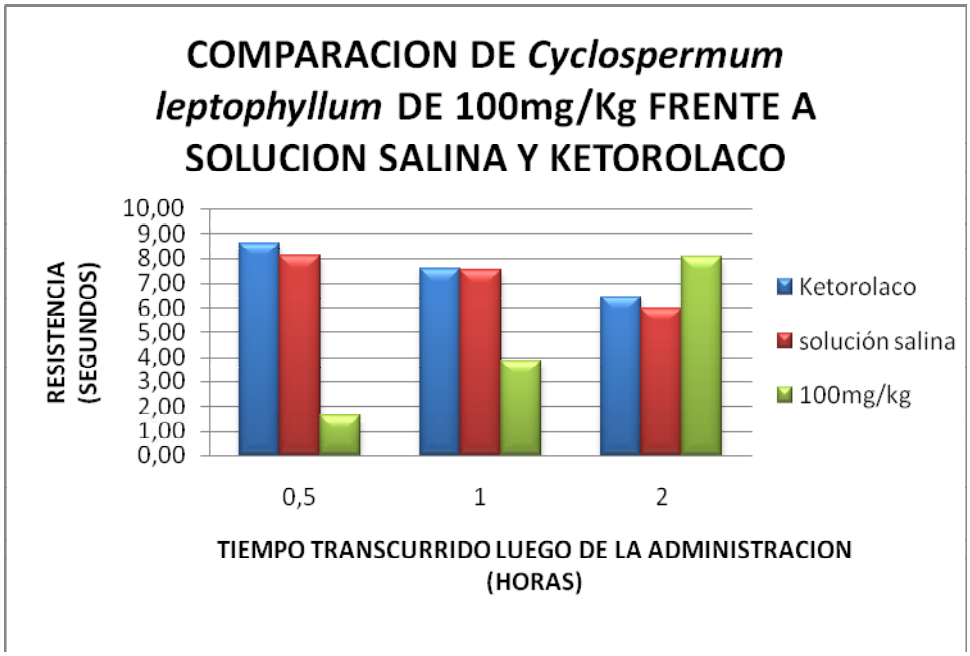


Figura 7. Test del Foco Calorífico con la dosis de 100mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas

Se puede observar un comportamiento muy variable, donde se reduce la resistencia natural del animal; volviéndose a los 30 minutos más sensible al agente álgico. No obstante, a los 60 minutos presenta una mayor resistencia soportando mejor el estímulo doloroso y a las 2 horas muestra un mayor efecto semejante al del patrón (ketorolaco). En resumen, esta conducta revela más bien una recuperación de los mecanismos homeostáticos propios del animal que le sirven para neutralizar el dolor, de manera autolimitante. Por otro lado, antes que una acción directa del agente antiálgico con el ketorolaco existe un comportamiento moderado, ya que a las 2 horas empieza a bajar su efecto como se observa en la figura 7.

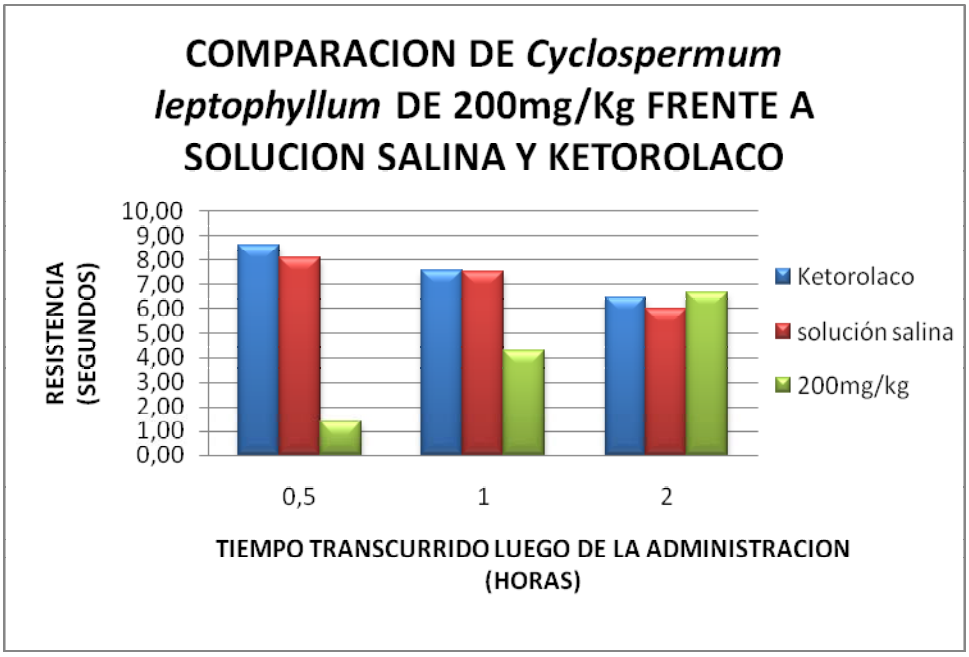


Figura8. Test del Foco Calorífico con la dosis de 200mg/Kg de *C. leptophyllum* aplicada frente a solución salina y ketorolaco que indica su evolución en horas

De manera general el comportamiento de los animales a la dosis de 200mg/Kg fue muy variado presentando una leve protección, como se observa en la figura 8 en donde a los 30 minutos de la administración no hubo mucha protección al estímulo doloroso, mientras que a los 60 minutos aumenta la resistencia y a los 120 minutos ya se observa un efecto analgésico mayor al patrón de referencia (ketorolaco) lo que confirma la misma hipótesis planteada acerca de recuperación de mecanismos homeostáticos propios del animal como se mencionó en el caso anterior.

Se puede entonces mostrar que esta evidencia de aparición de efecto analgésico a dosis bajas con el uso de foco calórico es dosis dependiente, tal como lo que indica Barzaga PG, et al (2002) en su trabajo con el *Ocimum tenuiflorum* donde explica que dieron resultados positivos de analgesia a la dosis de 1000mg/Kg, frente a dosis más bajas como la de 250mg/Kg, donde no se demostró un efecto favorable. (Barzaga PG, y col., 2002)

3.2 ANALISIS ESTADISTICO

Los datos fueron analizados por Software Microsoft Excel 2007. La Prueba estadística usada fue el Test de Student. El nivel de probabilidad de 0.05% o menos fue considerado estadísticamente significativo.

En donde las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

Hipótesis nula (Ho): que nos indica que el efecto analgésico mostrado por la concentración ya sea de 50, 100 y 200 mg/Kg es muy semejante que el Ketorolaco; mientras que la **hipótesis alternativa** (Hi), nos indica que el efecto analgésico con la concentración ya sea de 50, 100 y 200 mg/Kg es muy superior que el patrón.

De acuerdo a estas hipótesis se interpretó que si **t experimental** (estadística) es menor o igual a **t crítico** se acepta la hipótesis nula, por no existir diferencias estadísticamente significativas; y si **t experimental** es mayor a **t crítico** se rechaza la hipótesis nula, por haber diferencias estadísticamente significativas.

TEST DE INMERSIÓN DE LA COLA 50mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 8,37±2,31 frente 1,97±0,57 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 11,55±1,33 frente 2,23±1,13 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 13,33±1,55 frente 2,18±0,82 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 240 minutos se obtuvo 8,53±2,59 frente 2,66±1,01 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 360 minutos se obtuvo 3,33±1,27 frente 2,03±0,49 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

TEST DE INMERSIÓN DE LA COLA 100mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 2,32±0,62 frente 1,97±0,57 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 2,63±0,65 frente 2,23±1,13 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 3,70±0,41 frente 2,18±0,82 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 240 minutos se obtuvo 3,30±0,56 frente 2,66±1,01 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 360 minutos se obtuvo 3,33±1,27 frente 2,03±0,49 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

TEST DE INMERSIÓN DE LA COLA 200mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 2,48±0,35 frente 1,97±0,57 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 3,23±0,54 frente 2,23±1,13 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 4,23±1,37 frente 2,18±0,82 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 240 minutos se obtuvo 3,40±0,88 frente 2,66±1,01 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 360 minutos se obtuvo 4,87±2,73 frente 2,03±0,49 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

TEST DEL FOCO CALORIFICO 50mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 2,20±0,66 frente 8,64±1,52 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 4,80±2,71 frente 7,57±1,53 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 8,43±2,93 frente 6,46±0,71 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

TEST DEL FOCO CALORIFICO 100mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 1,62±0,69 frente 8,64±1,52 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 3,83±0,80 frente 7,57±1,53 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 8,07±2,64 frente 6,46±0,71 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

TEST DEL FOCO CALORIFICO 200mg/Kg FRENTE A KETOROLACO (1mg/kg)

En el tiempo de 30 minutos se obtuvo 1,35±0,43 frente 8,64±1,52 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 60 minutos se obtuvo 4,25±0,42 frente 7,57±1,53 siendo ($p>0,05$) por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa.

En el tiempo de 120 minutos se obtuvo 6,68±0,95frente 6,46±0,71 siendo ($p<0,05$) por lo tanto hay diferencia estadísticamente significativa.

CAPITULO 4

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

1. Los metabolitos presente en el extracto del *Cyclospermum leptophyllum* demostraron actividad antiálgica especialmente a una dosis de 50mg/Kg durante los tiempos de 60 y 120 minutos alcanzando una máxima resistencia a los 13,33 seg, mediante el test de inmersión de cola. Con la dosis de 100 y 200 mg/Kg se pudo observar que no hubo mucha variación es decir no hubo una respuesta significativa en comparación con la dosis de 50mg/Kg.

2. Los principios activos presentes en el *Cyclospermum leptophyllum* pueden dar una respuesta favorable donde el punto de efecto máximo antiálgico de las dosis medido con la técnica de Inmersión de la cola descrita por Ben-Bassat et al. (1995) estuvo comprendido entre 50 y 100mg/Kg.

3. Al comparar las diferentes dosis del extracto vs el patrón (ketorolaco) se pudo observar que solo con la dosis de 50 mg/Kg el efecto analgésico fue mucho

más notorio que a la del patrón (ketorolaco), mientras que con las dosis de 100 y 200 mg/Kg no hubo mucha variación de sus efectos con la del patrón (ketorolaco).

4. En cuanto a la técnica del foco calorífico la cual sirve para evaluar el control del dolor con un umbral considerablemente elevado, se pudo observar que las 3 dosis evaluadas del *Cyclospermum leptophyllum* (50, 100 y 200 mg/Kg), no se evidenció respuesta antiálgica; siendo posiblemente la recuperación, atribuible a los procesos homeopáticos del propio animal.

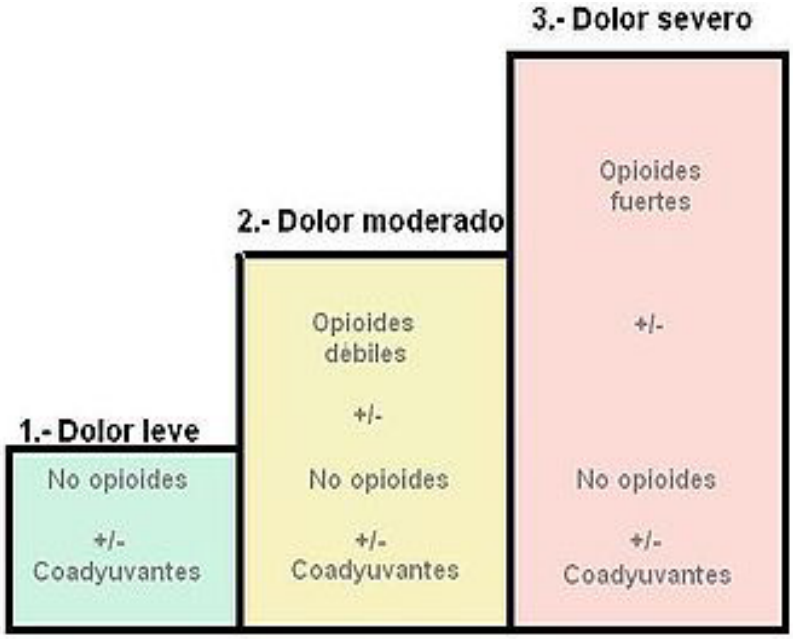
4.2 RECOMENDACIONES

1. Se deben evaluar dosis menores a 50mg/Kg en la técnica de la Inmersión de la cola para determinar su efecto analgésico.
2. Se deben evaluar dosis mayores a 250mg/Kg en la técnica del Foco calorífico para determinar su efecto analgésico.
3. Se deben probar otras técnicas como la de algesia química (test del ácido acético y formalina), test de carragenina y el test del plato caliente para confirmar los hallazgos encontrados.
4. Que se evalué por separado los alcaloides de la planta (*Cyclospermum leptophyllum*) que químicamente están relacionados con un potencial analgésico.

ANEXOS

ANEXO 1

ESCALERA ANALGÉSICA



Tomado de: http://es.wikipedia.org/wiki/Escalera_analg%C3%A9sica_de_la_OMS

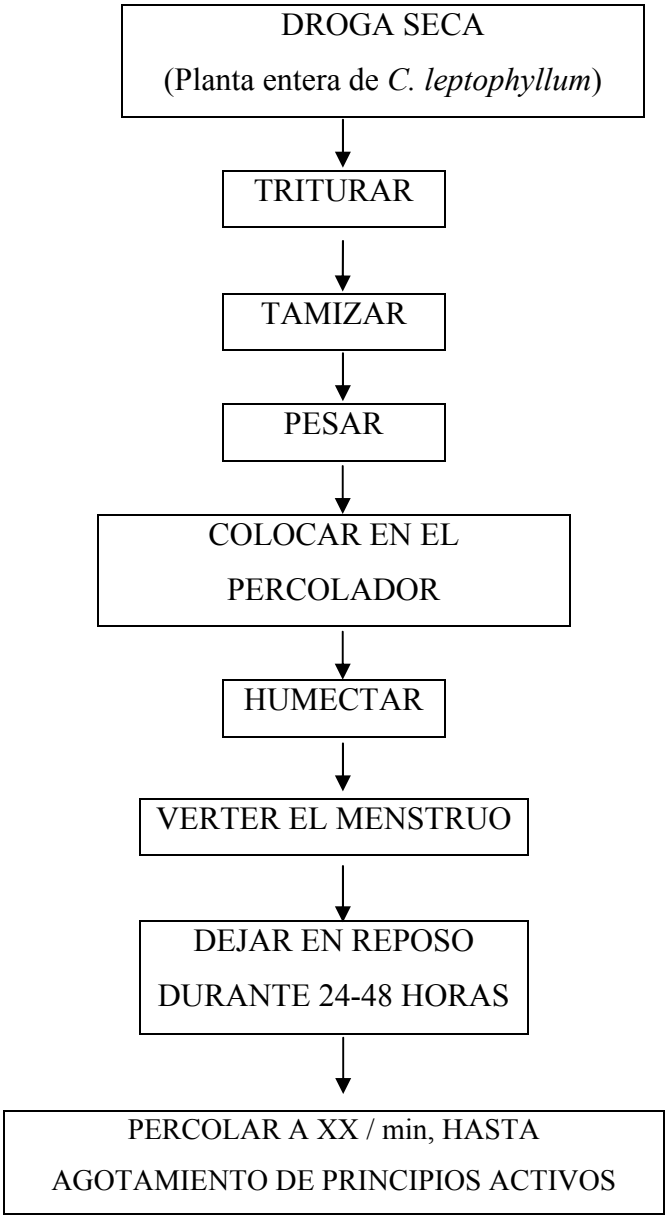
ANEXO 2

Cyclospermum leptophyllum (Culantrillo).

FOTO DE LA PLANTA

ANEXO 3

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DEL *Cyclospermum leptophyllum* (Culantrillo)



ANEXO 4

MODELOS ANIMALES

ROEDORES SWISS ALBINOS

ANEXO 5

TEST DE INMERSIÓN DE LA COLA

INMERSIÓN DE LA COLA DEL RATÓN EN AGUA A 55ºC

ANEXO 6

TEST DEL FOCO CALORIFICO

Foco de 60 W Osram

ACERCAMIENTO DE LA COLA DEL RATÓN AL FOCO

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rang H. P, y col., (2004). *Farmacología* (5ta ed). Madrid-España.
2. Basbaum AI, (1999), *Spinal mechanisms of acute and persistent pain*. Pag. 59-67. Obtenida el 12 de enero del 2009 de www.asacirujanos.es/articulos/versionimprimible.php?id=6 - 44k
3. BARZALLO Sacoto, y col., (1995). "*Reglas Practicas para el Anestesiólogo en Quirofanos*", Cuenca-Ecuador. Editorial Universidad de Cuenca-Facultad de Ciencias Médicas. Pag. 275-303
4. Alvares D, y col., (1999), *The regulation of key molecules in spinal sensory neurones during development and following peripheral axotomy. Pain.* Pag. 71-85. Obtenida el 12 de enero del 2009 de www.asacirujanos.es/articulos/versionimprimible.php?id=6 - 44k –
5. Ray, *S. (1984). Renacimiento en la nueva era. Obtenida el 14 de enero del 2009 de* http://es.wikipedia.org/wiki/dolor

6. Laurence M, (1995), *Técnicas Farmacológicas en el Tratamiento del Dolor,* Editorial Musby, 2ª Edición, Madrid-España. Pag 589. Obtenida el 20 de enero del 2009 de www.scielo.com
7. Wilson P., (1995), *Mecanismos del dolor: Anatomía y Fisiología. Dolor,* Editorial Musby, 2ª Edición, Madrid-España, Pag 65-77. Obtenida el23 de enero del 2009 de www.scielo.com
8. Janssen-Cilag (2001-2007). *Introducción al dolor*. Obtenida el 14 de enero del 2009, de www.janssen-cilag.es
9. Coni N, y col., (1990), *Manual Moderno*, México, Pag. 77-78, 237-238 obtenida el 28 de enero del 2009 de http://colombiamedica.univalle.edu.co/VOL23NO4/dolor.htm
10. AGS Panel on Chronic Pain in Older Persons, (1998), *The management of chronic pain in older persons,* Pag. 635-651 obtenida el 3 de febrero del 2009 de http://colombiamedica.univalle.edu.co/VOL23NO4/dolor.htm

11. Dagnino J, y col., (1994), *Analgésicos Narcóticos,* Chile. Obtenida el 3 de febrero del 2009 de http:// escuela.med.puc.cl/.../dolor/images/3_6_1f.gif
12. Yeager MP, y col., (1987) *Epidural anesthesia and analgesia in high-risk surgical patients. Anesthesiology.* Obtenida el 2 de diciembre del 2008, de http://escuela.med.puc.cl/Departamentos/Intensivo/ articles/papers/analgesia.html
13. Samaniego E, (1999), *Fundamentos de Farmacología Médica,* Editorial de la Universidad Central del Ecuador, 5 ed, Quito, Pag 489-490. Obtenida el 8 de febrero del 2009 de www.galeno21.com/INDICE%20FARMACOLÓGICO/KETOROLACO.htm-43k
14. THOMSON, (2004-2005*), PLM, Vademecum de Medicamentos*, 10 ª ed, Ecuador. Pag 363.
15. G Granadillo, y col., (2001), *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, Caracas-Venezuela, Pag 69-79. Obtenida el 18 de febrero del 2009 en www.scielo.com
16. Gillis J., (1997), *Ketorolaco: Una reevaluación de sus propiedades Farmacodinámicas y Farmacocinéticas, y su uso Terapéutico en el*

manejo del dolor. Drugs, Pag 139-145. Obtenida 18 de febrero del 2009 de www.scielo.com

17. de la Torre, L., y col., (2008.) *Enciclopedia de las Plantas Utiles del Ecuador.* Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. Quito & Aarhus. Pag. 169
18. MILDRED E. MATHIAS y col., (1976) Berlingska Boktryckeriet Lund, Pag. 58-60.
19. GENNARO, y col., (1987) *"Farmacia Remington",* Editorial Médica Panamericana S.A., 17ª Edición, Tomo 2, Buenos Aires – Argentina, págs. 2053,2054
20. CYTED, (1995), *Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; Manual de Técnicas de Investigación*; Editado por CYTED.
21. Gupta MP, y col., (1995), *Plantas Medicinales Iberoamericanas,* CYTED-SECAB, Santa Fe de Bogotá, Pag 99-324. Obtenida el 02 de marzo del 2009 de www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/efecto_analgesico_del_extracto_acuoso_liofilizado_de_ocimum_tenuiflorum_l..pdf -

22. Vanaclocha B, y col., (2003), *Monografías de Plantas Medicinales*. *Fitoterapia. Vademécum de Prescripción,* 4ª ed. Barcelona, Pag 487-478. Obtenida el 13 de marzo del 2009 de www.efisioterapia.net/articulos/imprimir.php?id=244 - 148k

23. THOMSON, (2004), PLM *Diccionario de Especialidades Farmaceúticas*, México. Obtenida el 16 de marzo del 2009 de http://www.libreriamedica8a.com/productos/1280.htm

24. Buznego MT, y col., (2002), *Efectos agudos del extracto del Cestrum nocturnum L. sobre diferentes modelos de epilepsia experimental,* Cuba, Pag. 73-76. Obtenida el 18 de marzo del 2009 de *bvs.sld.cu/revistas/pla/vol10_2_05/pla05205.pdf*

25. Roig JT, (1988), *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba.* La Habana-Cuba, Pag.443-444. Obtenida el 18 de marzo del 2009 de *bvs.sld.cu/revistas/pla/vol10_2_05/pla05205.pdf*

26. Barzaga PG, y col., (2002), *Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto acuoso liofilizado de Ocimum tenuiflorum L. en ratas,* Cuba, Pag. 74-77. Obtenida el 26 de marzo del 2009 de www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/efecto_analge

sico_del_extracto_acuoso_liofilizado_de_ocimum_tenuiflorum_l..pdf