

Mtra. María Elena Contreras Garfias
 Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
 PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
	21	1	2019		2	9	2021

Datos del Alumno

Nombre : Maritza Pacheco Pacheco	
Matrícula : 2152031084	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Calle Tlachichilpas/n barrio san Marcos Milpa Alta CDMX	
Teléfono : 5517112271	Celular : 5519186685
Correo Electrónico : maritza_2152@hotmail.com	CURP : PAPM940204MMCCCR06

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Evaluación de la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de Verbena Carolina L, en modelos animales.	
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Laboratorio de Química Organica y Productos Naturales, Depto Sistemas Biológicos	
Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco	
Entidad Federativa : Distrito Federal	
Municipio : Coyoacan	Localidad : CDMX
Fecha de Inicio	Fecha de Término
Día 26 Mes 1 Año 2019	Día 2 Mes 9 Año 2021

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: 3.- Público	Tipo: 2.- Interno
Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición	

FIRMAS

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez 17767

Asesor Interno
 Nombre, firma y No. Económico

Maritza Pacheco Pacheco

Alumno
 Nombre, firma

Asesor Externo
 Nombre, firma y No. Económico

Felipe Mendoza Pérez
 Vo. Bo. de la Comisión
 Nombre y firma de la persona que autoriza



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciudad de México 06 de septiembre de 2021

ASUNTO: CARTA DE LIBERACIÓN DE SERVICIO SOCIAL

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de CBS
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
PRESENTE

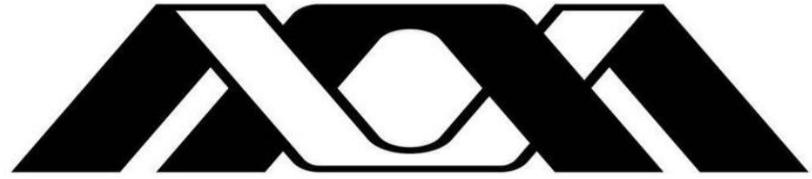
Por este medio me permito comunicar a usted que el alumno **Maritza Ochecho Pacheco**, matrícula número **2152031084**, de la carrera de **QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**; realizó el Servicio Social en el **Departamento de Sistemas Biológicos, laboratorio no. 8**, con el proyecto intitulado: Evaluación de la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de Verbena carolina L. en modelos animales, bajo la asesoría del Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez.

El alumno realizó el servicio social en el periodo del día **26 de Enero del 2019** al **02 de Septiembre del 2021**; cubriendo un total de **480 horas**.

Por lo que solicito su apoyo para los trámites de liberación correspondientes.

Saludos cordiales.

Dr. Miguel Angel Zavala Sánchez No. Eco. 17767



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Evaluación de la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de
Verbena carolina L en modelos animales.

Alumno:

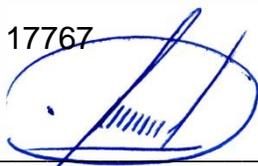
Maritza Pacheco Pacheco

Asesor:

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez

Datos para Liberación de servicio social:

- Prestador: Maritza Pacheco Pacheco
- Matricula: 2152031084
- Lugar y periodo de realización: Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales, Dpto. de sistemas Biológicos.
- 26-01-2019 al 02-09-2021.
- Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.
- Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica.
- Asesor: Miguel Ángel Zavala Sánchez
- Número económico: 17767

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'M' and 'Z' followed by a series of vertical lines, all enclosed within a large, loopy oval shape.

Firma de visto bueno del proyecto.

Asesor

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez.

INDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO TEÓRICO	6
3.1 Categorías taxonómicas	6
3.1.2 Distribución en México.....	6
3.1.3 Usos etnomédicos.....	6
3.1.4 Compuestos químicos.....	7
3.2 Dolor.....	9
3.3 Nocicepción	10
3.3.1 Mediadores bioquímicos en la nocicepción	10
3.3.2 Nociceptores cutáneos	11
3.3.3 Nociceptores musculares y articulares.....	12
3.4 Inflamación.....	13
3.4.1 Mediadores de la inflamación.....	13
4. OBJETIVO.....	14
4.1 Objetivos específicos.....	14
5. MATERIALES Y MÉTODO.....	15
5.1 Material vegetal	15
5.2 Pruebas fitoquímicas	15
5.3 Animales	15
5.4 Actividad antiinflamatoria.....	15
5.5 Actividad antinociceptiva	16
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	17
6.1 Obtención de los extractos	17
6.2 Pruebas fitoquímicas	17
6.3 Efecto Antiinflamatorio (Edema auricular inducido por aceite de croton).....	18
6.4 Efecto antinociceptivo (Formalina 1%).....	20
7. CONCLUSIÓN.....	24
8. RECOMENDACIONES.....	24
9. BIBLIOGRAFÍA.....	24

1. RESUMEN

Para realizar este trabajo se empleó la planta *Verbena carolina* L., la cual se encuentra ampliamente distribuida en México; esta fue recolectada en el Estado de México. Se obtuvieron 3 extractos: hidroalcohólico, clorofórmico y metanólico, a los cuales se evaluó su actividad antiinflamatoria y antinociceptiva mediante los modelos experimentales: test de formalina al 1% y edema auricular inducido por aceite de croton respectivamente.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto antinociceptivo de los extractos clorofórmico e hidroalcohólico de la planta *verbena Carolina* L. en ratas mediante la prueba de formalina al 1%. Los tratamientos (vehículo [sol. salina + DMSO al 5%], extractos [200 µg/pata] y diclofenaco [100 µg/pata]) fueron administrados localmente. Los resultados muestran que, el extracto que presentó mayor efectividad en este modelo fue el extracto clorofórmico ya que en la fase 2 demuestra que reduce la actividad nociceptiva, teniendo mayor similitud con el fármaco de referencia; los resultados sugieren que la COX-1, participa en la fase inflamatoria de la prueba de formalina, ya que existe la posibilidad de que la capacidad de disminuir el dolor o la inflamación se deba a los inhibidores de COX-2 mediante la inhibición de la COX1 o a mecanismos no relacionados con la COX. (Torres, J.2001).

Para el modelo de edema auricular inducido por aceite de croton, se utilizó como fármaco de referencia indometacina y como vehículo acetona. La técnica del edema administrado por vía tópica que presentó mayor actividad antiinflamatoria, fue el extracto clorofórmico con un porcentaje de 44.48% de inhibición del edema; este resultado se puede atribuir a los metabolitos secundarios presentes en este extracto, ya que debido a la polaridad del disolvente se deduce que los metabolitos que se encuentran presente en este extracto son fenoles e iridoideas, que de acuerdo con lo reportado en la literatura presentan actividad antiinflamatoria.

2. INTRODUCCIÓN

En México gracias a la gran diversidad biológica que existe, es muy común que la población recurra a la utilización de plantas medicinales para preservar o mejorar su salud; esto debido a que se considera natural y no perjudicial, por otra parte, se prefiere el empleo de estas plantas ya que su adquisición es más económica que un medicamento alopático.

Contar con una amplia variedad de plantas medicinales crea la necesidad de investigar sobre la medicina tradicional para garantizar su aprovechamiento y uso adecuado con base en estudios científicos.

La planta *Verbena carolina* L. (familia *Verbenaceae*), es una planta que tiene gran utilización en la población mexicana contando con varios nombres, pero es comúnmente conocida como verbena, ajeno grande, hierba de San José, hierba de San Juan entre otros. Es una planta perenne que llega a alcanzar 70 cm de altura. Está ampliamente distribuida en el valle de México. (Perozz, Nava, Meléndez & Camargo, 2007)

En la medicina tradicional mexicana, la *Verbena carolina* L, es comúnmente utilizada en el tratamiento de la diarrea, el vómito, dolor de muelas, dolor de cabeza, alteraciones nerviosas y amigdalitis. (Peroz, Nava, Meléndez & Camargo, 2007).

A pesar del uso de la *Verbena carolina* L. en la medicina popular, no se ha encontrado tanta información científica acerca de la amplia actividad farmacológica atribuida empíricamente a la *verbena*, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el probable efecto antiinflamatorio y antinociceptivo de la especie en el modelo de edema auricular inducido por aceite de crotón en ratones CD1, y el modelo experimental de antinocicepción por formalina al 1% en ratas wistar.

La respuesta inflamatoria puede verse provocada por diversos factores como agentes físicos, químicos y biológicos, incluidos trauma mecánico; o por infección producida por agentes como bacterias, virus y otros agentes patógenos, microorganismos o agentes infecciosos que pueden producir inflamación. (Teena, Ghosi, Rani & Pandey, 2017).

Los signos clásicos de inflamación son calor, enrojecimiento, hinchazón, dolor y pérdida de función. Estas son manifestaciones de los cambios fisiológicos que ocurren durante el proceso inflamatorio. (Teena, Ghosi, Rani & Pandey, 2017).

Los tres componentes principales de este proceso son: cambios en el calibre de los vasos sanguíneos y la tasa de flujo sanguíneo a través de ellos (cambios hemodinámicos), aumento de la permeabilidad capilar; exudación. (Teena, Ghosi, Rani & Pandey, 2017). El dolor puede ser de origen inflamatorio o neurótico, y se caracteriza por un realce de la sensación del dolor a los estímulos nociceptivos: hiperalgesia; y la percepción nueva de un estímulo normalmente inocua como muy dolorosa: alodinia. El estado de dolor crónico depende de la sensibilización de la médula espinal, la activación de las vías nociceptivas que se proyectan a la médula y mesencéfalo; y de la activación de los sistemas facilitadores descendentes del dolor, que es esencial en el mantenimiento del estado sensibilizado de la médula espinal. (Zegarra, J. 2007).

A su vez el proceso del dolor es una experiencia sensorial asociada a un daño tisular existente o potencial que incluye un estado de hiperalgesia, la expresión de la hipersensibilidad de las vías del dolor inducida por la sensibilización de los receptores periféricos. El sistema nervioso periférico (SNP) está constituido por

fibras nerviosas que transducen la información sensorial en actividad eléctrica que es transmitida desde las terminales periféricas al cerebro, que registran eventos dolorosos y de las neuronas que transmiten y procesan esta información sensorial al sistema nervioso central; las fibras formadas por neuronas de conducción media y lenta son responsables de interpretar y responder a estímulos potencialmente nocivos actuando, por tanto, como nociceptores, las neuronas nociceptivas reconocen estímulos mecánicos, térmicos y químicos que pueden ser dañinos para el organismo.(Cerveró,2008)

Los nociceptores periféricos se sensibilizan adquiriendo una mayor capacidad de respuesta a los estímulos periféricos; a nivel molecular, los nociceptores poseen en sus terminales un conjunto de receptores proteicos preparados para reconocer y transducir los estímulos nocivos de tipo físico, mecánicos, osmóticos, térmicos y químicos a los que se les pueden denominar receptores polimodales. (Zegarra, J. 2007).

El nociceptor se distingue de acuerdo con el tipo de fibra que lo constituye distinguiéndose los receptores A-delta y los receptores C, los primeros dan lugar a fibras mielinizadas y los segundos no, lo que proporciona más velocidad de conducción a las fibras A- delta con relación a las fibras C. (Zegarra, J. 2007).

Los nociceptores cutáneos tipo A responden a un dolor agudo como un piquete en la piel o bien a la penetración de un objeto punzante como una aguja; son los que se encuentran más superficiales en la piel y proporcionan una información del estímulo nocivo muy discriminada al sistema nervioso central. (Zegarra, J. 2007).

Por otra parte, los nociceptores cutáneos tipo C se encuentran más profundamente y su actividad evoca una sensación de tipo ardor, que además es menos discriminativa con relación a los nociceptores de tipo A. (Zegarra, J. 2007)

3. MARCO TEÓRICO



Verbena Carolina L.

Nombres comunes en español: Hierba de San José, hierba de San Juan, verbena, verbena del perro, verbena corriente, nardo de campo, poleo negro, hierba lengua de perro, ajeno grande, chilillo chino.

Hábito y forma de vida: Hierba erecta o ascendente.

Tamaño: Hasta de 70 cm de alto.

Tallo: Generalmente solitario, con pelos largos y tiesos o muy rígidos.

Hojas: Estrechándose en un corto pecíolo, o bien, subsésiles, oblongas, oblongo-lanceoladas o algunas veces elípticas, de 2.7

a 12 cm de longitud por 0.8 a 3 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, margen cerrado, base cuneada. (Salgado, 2016)

Flores: Con cáliz en la floración y fructificación de 2 a 3 mm de longitud; tubo de la corola escasamente sobresaliendo del cáliz, su limbo inconspicuo, de 1.5 a 2 mm de diámetro, de color morado. (Salgado, 2016)

3.1 Categorías taxonómicas

Reino: *Plantae*; Subreino: *Traqueobionta* (plantas vasculares); Superdivisión: *Spermatophyta* (plantas con semillas); División: *Magnoliophyta* (plantas con flor); Clase: *Magnoliopsida* (dicotiledóneas); Subclase: *Asteridae*; Orden: *Lamiales*. (Salgado, 2016)

3.1.2 Distribución en México

Se ha registrado de Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Colima, CDMX, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Sonora, Tlaxcala, Veracruz. (Salgado, 2016)

3.1.3 Usos etnomédicos

En la medicina tradicional mexicana, la *Verbena carolina* L, es comúnmente utilizada en el tratamiento de la diarrea, el vómito, la disentería, así como purgante pero principalmente en las enfermedades biliares. La verbena se utiliza en diversos padecimientos renales entre los que destacan la disolución de los cálculos en la vejiga y como diurético. También se usa en el dolor de muelas, en el dolor de cabeza, en alteraciones nerviosas, en amigdalitis, para la sordera, para tratar el

paludismo, la gota, el reumatismo y los estados febriles, las flores en té en caso de golpes y el follaje para la bilis. (Perozz, Nava, Meléndez & Camargo, 2007).

El uso externo de la planta *Verbena* se suele emplear para tratar diferentes patologías; como las relacionadas con el aparato reproductor femenino, mediante el uso de baños de asiento; de la cintura para abajo, también se puede emplear para la caída del cabello, caspa, orzuela, punzadas en la cabeza, para eliminar los piojos, así como para las infecciones de la piel como granos, heridas y golpes. (Salgado, 2016)

Se realiza una decocción de todas las partes de la planta; con este preparado se realizan los lavados para aliviar los diferentes padecimientos (Salgado, 2016)

3.1.4 Compuestos químicos

El género *Verbena carolina* L. biosintetiza diversos tipos de compuestos; algunos de ellos son derivados de glicosilados de iridoides, feniletanoides, flavonoides, triterpenos, esteroides. (García, 2012)

Algunas de las propiedades farmacológicas de estos metabolitos se encuentran los efectos antiinflamatorios, analgésicos, antimicrobianos, antioxidantes, hepatoprotectores. (García, 2012)

Los iridoides son monoterpenos cíclicos que contienen un esqueleto de 1,2- dimetil-3-isopropilciclopentano; representan un gran grupo de ciclopentano-[c]-pirano monoterpenoides. (García, 2012)

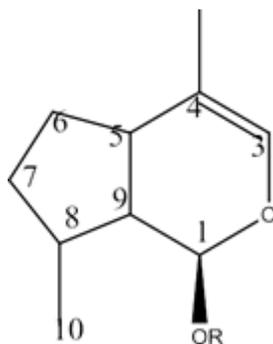


Figura 1. Enumeración de los iridoides

El esqueleto de ciclopentano-[c]-pirano puede consistir en diez, nueve o raramente ocho átomos de carbono, en el cual el C₁₁ se pierde con más facilidad que el C₁₀. (Figura 1).

Los iridoides están presentes en diversas plantas medicinales utilizadas como tónicos amargos, sedantes, antipiréticos, medicamentos para la tos, remedios contra algunas heridas, trastornos de la piel y como hipotensores. Estudios

farmacológicos revelan que estos compuestos presentan una amplia gama de actividades de tipo: cardiovasculares, antihepatotóxicas, coleréticas, hipoglicémicas e hipolipidémicas, antiinflamatorias, antiespasmódicas, antitumorales, antivirales, inmunomoduladoras y purgantes. (García, 2012).

Los triterpenos comprenden un grupo de metabolitos secundarios ampliamente distribuido en la naturaleza. Están constituidos por treinta átomos de carbono. Entre ellos se mencionan a los triterpenos tetracíclicos (Armas,2008).

Los triterpenos poseen una variedad de actividades biológicas, como bactericida, fungicida, antiviral, citotóxica, analgésica, antiinflamatoria, anticancerígena, hipocolesterolémica, espermicida, cardiovascular, antialérgica, entre otras; ya que la naturaleza hidrofóbica de los triterpenos es una característica importante en relación con sus propiedades biológicas. (Armas,2008).

Los triterpenos son capaces de inhibir y modular la acción y la expresión de diversas moléculas y complejos enzimáticos como la ciclooxigenasa y la sintetasa inducible de óxido nítrico (NOSi); su acción antiprostanóide se asocia con la inhibición de la expresión de COX-2 y de NOSi. Al respecto, el ácido ursólico puede inhibir la acción del monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) sobre las proteínas cinasas, estas enzimas promueven la expresión de COX-2 al interactuar sobre la región promotora del gen de la enzima (Armas,2008).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6) (Figura 2), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). (Armas,2008).

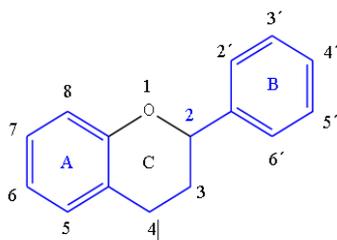


Figura 2. Esqueleto base de las flavonas (C6-C3-C6)

Además de sus conocidos efectos antioxidantes, los flavonoides presentan otras propiedades, combaten la inflamación y las alergias además aumentan la efectividad de las células del sistema inmunológico; muchos de estos efectos antiinflamatorios y antialérgicos podrían explicarse a través de su acción inhibidora

sobre el factor de transcripción nuclear NF- $\kappa\beta$, activador de muchas citosinas proinflamatorias (Armas,2008).

También, ejercerán su acción antiinflamatoria al inhibir las actividades enzimáticas del metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la 5-lipooxigenasa, así como por su actividad antiproteolítica al inhibir algunas proteasas de la matriz. (Armas,2008).

3.2 Dolor

El dolor puede ser definido según la asociación internacional para el estudio del dolor (IASP), como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial que se describe de acuerdo con la gravedad del daño (Lara, 2017). Consiste en interpretar los estímulos del dolor aquellos que estimulan a los nociceptores, los cuales son receptores sensitivos encargados de percibir el dolor y de transmitirlo; estos estímulos pueden ser de tipo mecánico, térmico o químico (Lara, 2017).

Cuando existe un funcionamiento anormal dentro de los componentes que conforman este proceso de nocicepción (que es la sensación que se asocia en general a un daño tisular), el dolor sobrepasa su función normal y se vuelve patológico. Esto con base en la memoria, el estado emocional y factores patológicos, además de factores cognitivos y genéticos. (Lara,2017).

De acuerdo con lo ya mencionado podemos clasificar al dolor por sus características, basadas principalmente en la duración y características fisiopatológicas que lo producen:

- a. Dolor transitorio: se activa por nociceptores cutáneos u otros tejidos del cuerpo en ausencia de daño tisular, su función es la de proteger al individuo de un posible daño físico provocado por el medio ambiente o estrés excesivo sobre el tejido. (Lara, 2017).
- b. Dolor agudo: el dolor agudo se origina con un estímulo nocivo y causa una reacción inmediata de alarma en la persona, por lo que posee una función biológica protectora. Las secuelas psicológicas no son importantes y el dolor desaparece con la lesión que lo originó. El dolor agudo se activa por la estimulación de nociceptores presentes en el tejido dañado. (Lara, 2017).
- c. Dolor crónico: es la consecuencia de un daño y/o disfunción del sistema nervioso periférico o central (dolor neuropático), o bien de un daño al tejido periférico y la sucesiva respuesta inflamatoria (dolor inflamatorio) (Levine & Reichling, 2003). Además, el dolor patológico se caracteriza por generar respuestas nociceptivas como son la alodinia que es el dolor producido por un estímulo que normalmente no

causa dolor y la hiperalgesia que se caracteriza por sentir un dolor producido por un estímulo nocivo que se percibe con mayor intensidad de lo normal (Lara,2017).

3.3 Nocicepción

Los estímulos causantes del dolor se llaman noxas y son detectados por receptores sensoriales específicos llamados nociceptores. Los nociceptores son identificados como fibras C y fibras A δ ; responden selectivamente a estímulos. Dichos nociceptores son terminaciones nerviosas libres con cuerpos celulares en los ganglios de las raíces dorsales con terminación en el asta dorsal de la médula espinal. Los nociceptores se encuentran en todo el cuerpo, pero están más extensamente localizados en: periostio, pared arterial, dientes, superficie articular, bóveda craneana. (Zegarra,2007)

El dolor nociceptivo de tipo inflamatorio, de significado clínico, es desencadenado por lesiones tisulares que dan lugar a una respuesta inflamatoria que, a su vez, estimula directamente a los nociceptores. El dolor inflamatorio es causado por rupturas tisulares (heridas, fracturas, desgarros musculares, etc.) presiones intensas (que ocasionan isquemia o daños tisulares), quemaduras, frío intenso y prolongado, y lesiones químicas (por sustancias ácidas o alcalinas). (Zegarra,2007)

Desde las células lesionadas se inicia la liberación de una gran variedad de sustancias, y otras son sintetizadas durante los eventos que siguen a la lesión. Algunas de estas sustancias sensibilizan a los nociceptores, mientras que otras los activan directamente. (Zegarra,2007).

3.3.1 Mediadores bioquímicos en la nocicepción

La actividad y metabolismo de las fibras sensoriales es alterada por una variedad de mediadores que se generan por el daño tisular y la inflamación. Estos mediadores incluyen sustancias liberadas por el tejido dañado, sustancias de origen vascular, de fibras aferentes, fibras simpáticas y diversas células inmunes.

El efecto de estos mediadores consiste en activar o sensibilizar las fibras aferentes produciendo cambios en los canales iónicos y receptores de membrana. Estos cambios tienen el potencial de alterar la transcripción de genes e inducir a largo plazo alteraciones en la bioquímica de las neuronas sensoriales (Woolf & Costigan, 1999).

TABLA 1 Principales neuroreguladores implicados en la respuesta del dolor

Pronociceptivos	Antinociceptivos	Ambos
Protones		
Histamina	β -Endorfinas	
Sustancia P	Dinorfina	
NGF	Encefalinas	
Prostaglandinas	Acetilcolina	Serotonina
Glutamato	Dopamina	Bradicinina
CGRP	GABA	Óxido Nítrico
Leucotrienos	Norepinefrina	
Tromboxanos	Epinefrina	
TNF	Glicina	
IL-1,6		

Dentro de la modulación, los neuroreguladores juegan un papel muy importante en la comunicación celular nerviosa, pueden subdividirse en neurotransmisores y neuromoduladores (Lara I, 2007).

Los neurotransmisores básicamente llevan información entre células nerviosas adyacentes, mientras que los neuromoduladores aumentan o disminuyen la actividad: afectando la síntesis, recaptura, biotransformación o unión al receptor de los neurotransmisores (Lara I, 2007).

3.3.2 Nociceptores cutáneos

Presentan las siguientes características: Un alto umbral a la estimulación cutánea, es decir se activan sólo frente a estímulos intensos.

Capacidad para codificar la intensidad de los estímulos en el rango nocivo

Falta de actividad espontánea en ausencia de un estímulo nocivo previo

Existen dos tipos fundamentales de nociceptores cutáneos en función de la velocidad de conducción de sus fibras aferentes:

+ Nociceptores A- δ :

Son las terminaciones sensoriales de fibras mielínicas de pequeño diámetro, con velocidades de conducción entre 5 y 30 metros/s, responden casi exclusivamente a estímulos nocivos de tipo mecánico. Se localizan en las capas superficiales de la dermis, con ramificaciones que se extienden hasta la epidermis. Responden a estímulos mecánicos con umbrales mucho más altos que los de los mecanorreceptores de bajo umbral, cuya activación está relacionada con el sentido del tacto. Los nociceptores A- δ responden especialmente bien a piquetes y pellizcos aplicados a la piel, o a penetraciones de objetos punzantes.

+ Nociceptores C:

Son las terminaciones nerviosas de fibras aferentes amielínicas con velocidades de conducción inferiores a 1,5 metros/s. Son simples terminaciones libres en la piel y responden a estímulos nocivos mecánicos, térmicos o químicos. También se activan por sustancias liberadas por el daño tisular, como: bradicinina, histamina, acetilcolina y iones de potasio. Por su capacidad de respuesta a una gran variedad de estímulos nocivos se les ha denominado “nociceptores polimodales”.

Existen un grupo particular de nociceptores denominados silentes, que sólo se activan tras inflamación o lesión tisular, y una vez activados responden a una gran variedad de estímulos.

3.3.3 Nociceptores musculares y articulares

A nivel muscular los nociceptores son terminaciones de fibras A- δ (llamadas fibras del grupo III a nivel muscular) y de fibras C (llamadas fibras del grupo IV también a este nivel). Las fibras del grupo III responden a iones potasio, bradicinina, serotonina y a contracciones sostenidas del músculo. Las fibras del grupo IV responden a estímulos como presión, calor e isquemia muscular.

Las articulaciones están inervadas por nociceptores que responden a movimientos articulares nocivos y son las terminaciones de fibras aferentes amielínicas. Se estimulan en presencia de factores liberados por el daño tisular y pueden ser sensibilizados por la inflamación local de la articulación. (Armas,2008)

La sensación de dolor se produce por la estimulación directa de las terminaciones nerviosas, también es importante la inflamación secundaria que produce una sensibilización periférica en la cual participan sustancias alogénicas como prostaglandinas, potasio, bradicinas, histamina, entre otras que aumentan la sensibilidad del nociceptor al aumentar la permeabilidad de los canales iónicos llamados mediadores tisulares de lesión (Armas,2008).

Teniendo en cuenta que los nociceptores periféricos son sensibilizados por mediadores tisulares de lesión, aumentan la excitabilidad y la frecuencia de descarga neuronal, en una respuesta conocida como hiperalgesia primaria, que permite que estímulos previamente poco nocivos que ingresan a la médula; generen potenciales de acción y sean transducidos ortodrómicamente en la médula espinal. La transducción del impulso en las neuronas de primer orden es mediada por sustancias nocivas liberadas por los tejidos dañados, pero también los reflejos axonales la exacerban al liberar sustancia P, que causa vasodilatación, desgranulación de mastocitos, y lo que a su vez libera histamina y serotonina y aumenta la recepción del tejido contiguo no lesionado (Armas,2008).

3.4 Inflamación

El proceso de inflamación se desarrolla en el organismo como parte de un mecanismo de defensa en respuesta a estímulos de diversa naturaleza. Estos pueden ser provocados por diversos factores como externos, traumatismos mecánicos, productos químicos, lesiones provocadas por procesos isquémicos, patogénicos (virus, parásitos y bacterias) autoinmunes. (Armas, 2008)

La inflamación se localiza generalmente en el tejido conectivo, en donde ocurre la degeneración de las paredes de los vasos sanguíneos y se produce un incremento en la permeabilidad. Estos eventos conducen a una extensa salida de plasma y células, que luego penetran en el espacio intersticial y migran hacia la zona dañada. A nivel macroscópico, el proceso se manifiesta por la presencia de eritema, edema, calor y dolor. (Armas, 2008).

La inflamación aguda contribuye con la eliminación de células muertas, la neutralización infecciones locales y la promoción de la acción del sistema inmune. La respuesta aguda se controla por mediadores celulares y moleculares. Los componentes celulares incluyendo: células endoteliales, eosinófilos, neutrófilos, monocitos-macrófagos, mastocitos-basófilos, linfocitos y plaquetas. (Armas, 2008).

Los mediadores de la inflamación comprenden las proteasas plasmáticas, incluidas los sistemas de complemento, de cininas y de coagulación; los mediadores lipídicos, como las prostaglandinas, los leucotrienos y el factor activador de plaquetas; neuro péptidos y aminas vasoactivas, las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y las citocinas (Armas,2008).

3.4.1 Mediadores de la inflamación

La inflamación inicia con fenómenos vasculares durante las primeras horas; son varias las moléculas que intervienen en inflamación, sin embargo, las prostaglandinas, los leucotrienos y el óxido nítrico han sido considerados como las moléculas más activas durante este proceso (Armas,2008).

Las prostaglandinas son los autacoides más abundantes se pueden encontrar casi en todos los tejidos y fluidos del organismo, su producción puede deberse a diversos estímulos. (Armas, 2008).

Por otra parte, las ciclooxigenasas (COX) son las enzimas responsables de la producción de prostaglandinas. Se encuentran en la membrana microsomal y nuclear, catalizan tanto la ciclación del ácido araquidónico a prostaglandina G₂ (PGG₂) como su conversión inmediata en prostaglandina H₂ (PGH₂). Este endoperóxido es sustrato de varias isomerazas específicas. (Armas, 2008).

La sintasa de prostaciclina convierte a PGH₂ en prostaciclina (PGI₂), la cual participa en vaso dilatación y en la inhibición de la agregación plaquetaria. En tanto

la sintasa de tromboxano transforma a PGH₂ en tromboxano. Así que tienen acciones opuestas a las PGI₂. También a partir de la PGH₂ y por la acción de tres sintasas, se producen prostaglandinas D₂, E₂ y F₂α. En procesos alérgicos, los mastocitos liberan la PGD₂, este mediador posee funciones similares a la prostaciclina PGI₂, además actúan en los receptores del dolor. La PGE₂ activa a los leucocitos y las plaquetas, junto con la interleucina-1 e histamina promueven la fiebre, el edema y eritema. (Armas, 2008).

Se pueden encontrar dos isoformas de la ciclooxigenasa COX-1 “constitutiva” y la COX-2 “inducible”; la COX-1 está presente en casi todas las células del organismo, con excepción de los hematíes. Esta enzima constitutiva es responsable de la producción permanente de prostaciclina PGI₂. Las prostaglandinas derivadas de COX-1 controlan el flujo y la distribución sanguínea renal, la reabsorción de sodio y agua, así como la liberación de renina. En tanto la COX-2 no está presente en condiciones normales, aparece en respuesta a un daño tisular o estímulo inflamatorio, no obstante, se sospecha su existencia en el cerebro. Esta enzima se induce únicamente en la inflamación, como respuesta a citocinas proinflamatorias (IL, IL-6 y FNT-a); algunos factores de crecimiento y el lipopolisacárido (LPS). Su expresión se inhibe por citocinas antiinflamatorias y fármacos no esteroideos (Armas, 2008) (Torres y Granados, 2001).

Al igual que las prostaglandinas los leucotrienos derivan del ácido araquidónico, por la acción enzimática de la 5-lipooxigenasa; las lipooxigenasas (LO) son enzimas citosólicas que incorporan una molécula de oxígeno en la estructura del ácido araquidónico, dependiendo de la posición en la cual producen la oxigenación, existen tres formas en la estructura del ácido araquidónico: 5-LO, 12-LO y 15-LO. (Armas, 2008)

La 5-LO es la enzima más importante, se localiza principalmente en los neutrófilos, los eosinófilos, los macrófagos y los mastocitos. La enzima inactiva se transloca hacia la membrana nuclear, en donde interacciona con su proteína activadora, después de diversos pasos este leucotrieno final tiene acción en la constricción de vasos sanguíneos (Armas, 2008).

4. OBJETIVO

Evaluar la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de *Verbena carolina* L.

4.1 Objetivos específicos

- Obtener los extractos Clorofórmico (CHCl₃), Metanólico (MeOH) e Hidroalcohólico de *Verbena carolina* L.
- Realizar pruebas fitoquímicas a los extractos de *Verbena carolina* L.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos mediante el modelo de edema auricular inducido con aceite de croton.

- Evaluar la actividad antinociceptiva mediante la prueba de formalina al 1%

5. MATERIALES Y MÉTODO

5.1 Material vegetal

El material vegetal se recolectó en el Estado de México, se llevó a cabo la autenticación de la planta por personal especializado, en función de las características macro y microscópicas.

Obtención de los extractos clorofórmico (CHCl_3), metanólico (MeOH) e hidroalcohólico de *Verbena carolina* L.

Se utilizaron 500 g de la planta seca y molida, se llevaron a cabo las extracciones consecutivas en 500 mL de cada disolvente de acuerdo con su polaridad (hexano, cloroformo y metanol), mediante reflujo; una vez obtenidos se filtraron al vacío, para eliminar el disolvente de la muestra se utilizó la técnica de presión reducida.

5.2 Pruebas fitoquímicas

Las pruebas fitoquímicas se realizaron por el método colorimétrico de Olga Lock.Pawer,D. Park,S. Roca,M. Salazar,A. et al. (2018).

Para la determinación de alcaloides, se realizó la reacción de Dragendorff, Wagner, Hager; la detección de fenoles y taninos se logró con la reacción de tricloruro férrico (FeCl_3), con la reacción de Baljet se determinaron estructuras abiertas (secoiridoides) o cerradas (iridoides) generalmente en forma heterosídica, mayoritariamente como glucósidos, lactonas y sesquiterpenos. Se catalogó cualitativamente la presencia o ausencia de los metabolitos.

5.3 Animales

Se emplearon ratones macho de la cepa CD-1 con un peso de 25-30 g, y ratas wistar hembras de 180-200 g de peso corporal, proporcionados por el bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana; se mantuvieron en condiciones de luz y oscuridad por 12 horas, con agua y alimento disponibles, hasta su uso experimental. Los animales se trataron de acuerdo con el procedimiento actual para el cuidado de los animales por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

5.4 Actividad antiinflamatoria

Para la actividad antiinflamatoria se utilizó una solución de aceite de croton al 5% en acetona; se administraron 10 μ L de la solución en la oreja derecha por ambos lados (interno y externo) por vía tópica.

Después de 30 min de la aplicación del aceite de croton, se administraron tópicamente los tratamientos extracto MeOH, CHCl_3 , indometacina y vehículo (acetona) en ambos lados de la oreja derecha.

Los animales se sacrificaron 6 horas después de la aplicación del aceite de croton, posteriormente se realizó una perforación con un sacabocados de 4mm, en ambas orejas del animal y se registró el peso del tejido auricular.

Los animales se separaron en 5 grupos (n=6). Los extractos se administraron tópicamente a una concentración de 2 mg/oreja en 10 µL, al grupo control positivo se le administró indometacina (2 mg/oreja) y a otro grupo acetona como vehículo. La actividad antiinflamatoria se determinó mediante porcentaje de inhibición, con respecto al edema formado en la oreja de los animales del grupo administrado únicamente con acetona por medio de la fórmula:

$$\frac{(w - w_0) - (w' - w_0')}{(w - w_0)} \times 100$$

Donde:

W= peso de la oreja con aceite (control)

W0 = peso de la oreja con vehículo (control)

W' = peso de la oreja con aceite (tratada)

W0' = peso de la oreja con vehículo (tratada)

5.5 Actividad antinociceptiva

Para la actividad antinociceptiva se colocaron a los animales (ratas), dentro de cilindros de acrílico transparente, para darles un periodo de adaptación al ambiente de 30 minutos, posteriormente se les administraron los tratamientos los cuales fueron los extractos hidroalcohólicos, CHCl₃, diclofenaco y vehículo en un volumen de 50 µL en la región dorsal de la pata derecha.

Después de 10 min de la aplicación de los tratamientos se administraron 50 µL de una solución de formaldehído al 1% en la región dorsal de la pata derecha. Cada rata se colocó nuevamente en el cilindro y se cuantificó la conducta dolorosa por medio de sacudidas a intervalos de 1 min cada 5 min, durante una hora. Los experimentos se llevaron a cabo en las mismas condiciones tanto de animales como del ambiente manteniendo este una temperatura promedio de 25 °C.

Para la realización del experimento se utilizaron 3 grupos de 4 ratas cada uno, los extractos se administraron en dosis de 200 µg/pata disueltos en solución salina y dimetil sulfoxido (DMSO) al 5%. Un grupo recibió diclofenaco como control positivo a una concentración de 100 µg/pata y otro grupo recibió solución salina ± DMSO al 5%vehículo como tratamiento.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Obtención de los extractos

La obtención de los extractos se realizó a partir de 500 g de material vegetal seco y molido de (*Verbena Carolina* L.) se obtuvieron 50.8g de extracto metanólico y 4.1g de extracto clorofórmico con un rendimiento de 10.16% y 0.82% respectivamente, para el extracto hidroalcohólico se utilizaron 50 g de material vegetal seco y molido obteniendo 1 g del extracto con un rendimiento de 2%.

6.2 Pruebas fitoquímicas

De acuerdo con la Tabla 2. El análisis fitoquímico cualitativo permitió comprobar que la planta *Verbena Carolina* L. tiene una elevada presencia de alcaloides, ya que presenta un precipitado con los reactivos Hager, Wagner y Dragendorff, de acuerdo con (C Jaramillo et.al 2016) estos metabolitos pueden ayudar a la planta con diversas funciones; una de ellas es la defensa a una variedad de patógenos, así como sus propiedades medicinales.

También se puede observar que los metabolitos que se encuentran en una cantidad moderada son fenoles y taninos de acuerdo con el método de cloruro férrico (FeCl_3), cuando existe un cambio de color a verde oscuro indica la presencia de fenoles o taninos de tipo catecol (flavonoides o taninos condensados) (Robles-García et al., 2016) lo cual indica actividad antioxidante, así como propiedades antiinflamatorias, propiedades cardiovasculares, e iridoides que presentan propiedades antibacterianas (García A, 2012).

A estos metabolitos como los flavonoides se le pueden atribuir propiedades antiinflamatorias ya que esta propiedad se relaciona con la inhibición de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico, como la ciclooxigenasa, lipooxigenasa, fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH) oxidasa, xantina oxidasa, y de radicales libres. También se le atribuyen la inhibición de la liberación de histamina, inhibición de la migración celular (en el proceso inflamatorio los leucocitos se dirigen por quimiotactismo hacia el foco inflamatorio, donde son activados liberando eicosanoides y otros agentes proinflamatorios); los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues la actividad inhibidora de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad inflamatoria.(Enciso & Arroyo, 2013).

A si mismo también lo alcaloides presentan un efecto, en este caso antinociceptivo, ya que pueden reducir la síntesis de las prostaglandinas o interferir en el mecanismo de transducción de los nociceptores primarios aferentes, ya que se ha vinculado con dolores relacionados con procesos inflamatorios, las prostaglandinas, citoquinas y aminas simpaticomiméticas mediarían el estímulo nociceptivo (Soto, 2014).

Tabla 2. Pruebas fitoquímicas de *Verbena Carolina* L

METABOLITO	PRESENCIA
Alcaloides	+++
Fenoles	++
Taninos	++
Iridoides	++

Presencia de metabolito secundario “+++” (abundante), “++” (moderado), “+” (leve) “-” (ausencia).

6.3 Efecto Antiinflamatorio (Edema auricular inducido por aceite de croton)

Tabla 3. Efecto de los extractos CHCl₃, MeOH, Hidroalcohólico e Indometacina en la formación del edema.

Tratamiento	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg)
Control (100% de inflamación)	-	17.43 ± 0.88
Indometacina	20	3.26 ± 1.25
Ext. CHCl ₃	20	9.71 ± 0.90
Ext. MeOH		13.38 ± 0.76
Ext. Hidroalcohólico		12.51±1.41
Vehículo etanol	-	17.36±1.22
Vehículo acetona	-	17.26±0.63

Como se muestra en la tabla 3, las orejas de los animales que recibieron únicamente el aceite de croton (control) desarrollaron edema de 17.43 ± 0.88 mg a las 6 horas después de la aplicación del aceite. Los animales de los grupos vehículo acetona y etanol, desarrollaron un edema muy similar al grupo control (17.26 ± 0.63 mg y 17.36 ± 1.22 mg, respectivamente), con una inhibición del 3.63 ± 4.07% y 4.93 ± 7.76% respectivamente. Por otro lado, los animales que recibieron indometacina (2 mg/oreja) desarrollaron un edema menor 3.26 ± 1.25 mg en comparación con el grupo control mostrando inhibición del 82.57 ± 3.75%. El grupo tratado con el extracto CHCl₃ (2 mg/oreja) desarrolló edema de 9.71 ± 0.26 mg, mostrando un porcentaje de inhibición del 44.48 ± 5.95%. El extracto MeOH presentó edema de 13.38 ± 0.78 mg, equivalente a una inhibición del 23.23 ± 5.05%. EL extracto hidroalcohólico (2 mg/oreja) presentó un edema de 12.51±1.41mg, equivalente a una inhibición del 32.71 ± 8.76%. El extracto MeOH no mostró actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa (p<0.05) en comparación con los grupos vehículo.

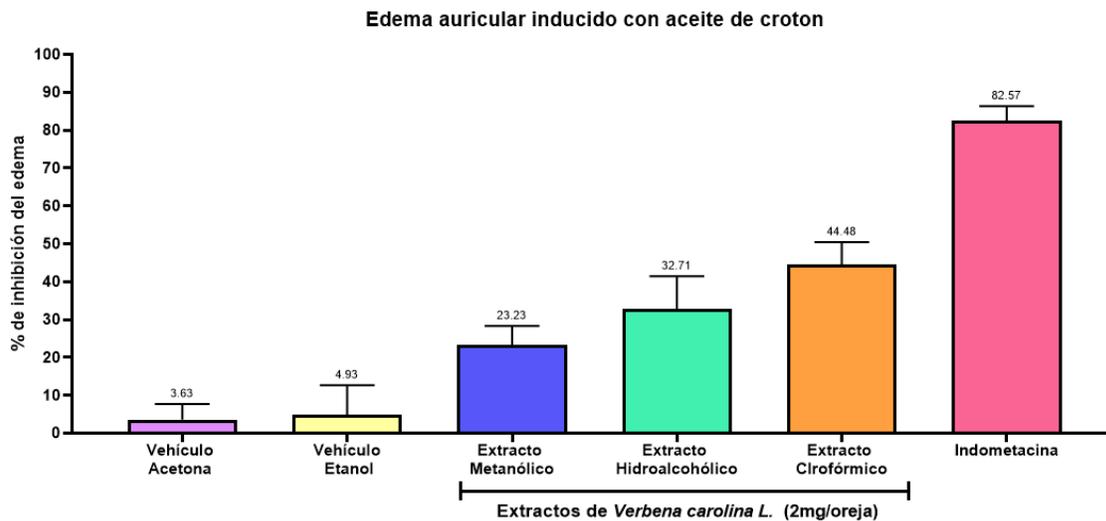


Figura 3. Efecto antiinflamatorio de los extractos CHCl₃, MeOH, Hidroalcohólico e Indometacina en el modelo del edema auricular inducido con aceite de croton. * p<0.05 con respecto al grupo vehículo; n=6; ANOVA de una vía seguido de una prueba de comparaciones múltiples (Tukey).

El proceso de inflamación fue desencadenado al administrar por vía tópica el aceite de croton, este proceso se debe a que el aceite de croton contiene ésteres de forbol de las cuales la sustancia más activa es el TPA. El Aceite de croton desencadena un incremento en el peso de la oreja del ratón, los ésteres de forbol actúan como sustitutos del diacilglicerol activando así la proteína quinasa PKC. (sotelo et al., 2019).

Este es un modelo útil para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de diversos compuestos, puesto que ha sido establecido que los mediadores más importantes involucrados en la formación del edema inducido por este agente son: la histamina, la serotonina y las prostaglandinas, productos de una exacerbación del metabolismo del ácido araquidónico (AA). (Duménigo et al 2014). Como fármaco de referencia se utilizó indometacina (2 mg/oreja), ya que como se reporta en la literatura es el fármaco que presenta un buen porcentaje de inhibición del edema con un valor promedio de 80% (Duménigo et al 2014). En este experimento presentó un porcentaje de inhibición del edema del 82.57% como se muestra en la figura 3. Esto es debido a su mecanismo de acción, ya que la indometacina es un inhibidor no específico de la COX (ciclooxigenasa), enzima responsable de la síntesis de los metabolitos del ácido araquidónico, así como de los mediadores más importantes involucrados en la formación del edema los cuales son la histamina, la serotonina y las prostaglandinas. Al inhibir dicha enzima se detiene el proceso de esta síntesis y de los metabolitos que efectúan la respuesta inflamatoria. (Duménigo et al 2014).

Por otra parte, tenemos a los extractos como el CHCl_3 que presentó un porcentaje de inhibición del edema mayor a los otros extractos con un 44.48% como se muestra en la figura 3. Esto debido a su polaridad, ya que en este extracto pueden estar presentes diversos metabolitos secundarios como los fenoles e iridoides, los cuales presentan actividad antiinflamatoria según lo reportado en la literatura. Como los iridoides catalpósido y verprósido, que se han aislado de distintos tipos de *verbena* como la *verbena anagillis* L., planta usada en la cultura china con propiedades antiinflamatorias a la dosis de 500 mg/kg (García, A. 2012).

También el extracto hidroalcohólico presentó un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 32.71% como se muestra en la figura 3. Esto puede ser por su polaridad y la polaridad de los metabolitos secundarios que pueden estar presentes en este extracto como los fenoles y flavonoides los cuales presentan actividad antioxidante y antiinflamatoria inhibiendo así gran variedad de enzimas, como la ciclooxigenasa, lipooxigenasa, NADPH oxidasa, xantina oxidasa, los radicales libres y reduciendo el estrés oxidativo (Enciso and Arroyo, 2013).

De igual forma el extracto MeOH presentó un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 23.23% como se observa en la figura 3. Esto puede deberse a los metabolitos secundarios que pueden estar presentes en este extracto como alcaloides, ya que algunos alcaloides de origen vegetal especialmente del grupo isoquinolínicos (IQs), resultan de gran interés por su efecto antiinflamatorio, ampliamente estudiado y demostrado tanto in vitro como in vivo (Martínez and Cano 2009).

6.4 Efecto antinociceptivo (Formalina 1%)

En el modelo de formalina, la inyección subcutánea al 1% fue en la pata posterior derecha la cual produjo un patrón típico de sacudidas, comportamiento caracterizado por un curso temporal bifásico. La fase I corresponde a la respuesta antinociceptiva la cual comenzó después de la administración de formalina y fue decreciendo gradualmente en aproximadamente 10 minutos. La fase II comenzó alrededor de los 15 minutos después de la administración de formalina y duró aproximadamente 1 hora como se muestra en la figura 4. Así mismo se muestran los resultados obtenidos del grupo vehículo (sol. salina + DMSO 5%), diclofenaco (100 μg /pata), así como del extracto CHCl_3 (200 μg /pata) e hidroalcohólico (200 μg /pata).

La administración local de diclofenaco disminuyó el número de sacudidas en ambas fases de la prueba en comparación con el grupo vehículo. El extracto CHCl_3 mostró una disminución del número de sacudidas en comparación con el grupo vehículo y un comportamiento un tanto similar con el grupo diclofenaco.

A su vez la administración local del extracto hidroalcohólico no disminuyó el número de sacudidas, en comparación con el grupo de referencia el diclofenaco, por el contrario, presenta más similitud con el grupo vehículo por lo cual podemos inferir que este extracto no presentó actividad farmacológica en la prueba.

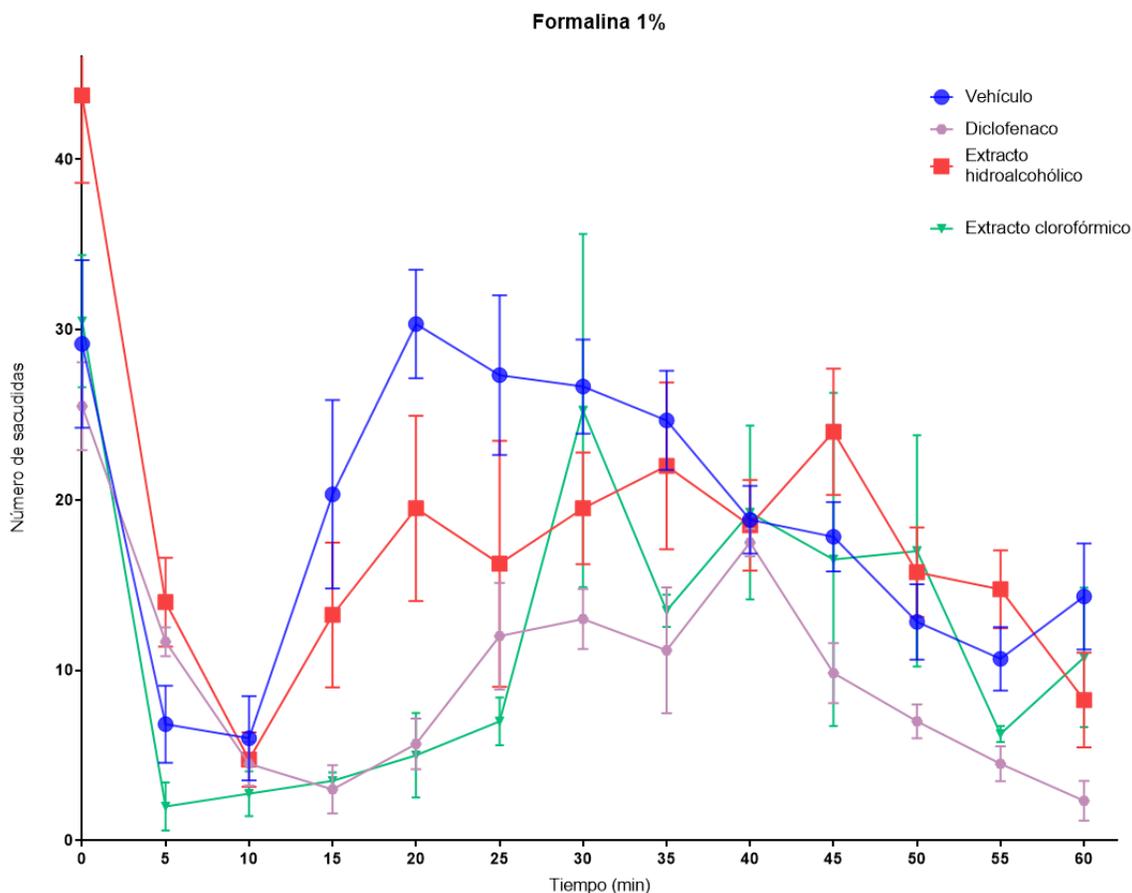


Figura 4. Curso temporal del efecto del extracto CHCl_3 , Hidroalcohólico, Diclofenaco y vehículo en la prueba de formalina al 1%. Los datos son el promedio de 6 ratas \pm error estándar.

En la figura 4 podemos observar que el grupo con mayor número de sacudidas por minuto fue el grupo vehículo, seguido por el grupo hidroalcohólico, posteriormente el grupo CHCl_3 y por último el grupo diclofenaco.

Se distingue la conducta bifásica (fases 1 y 2), la primera a partir de (0-10 minutos) y la segunda de (15-60 minutos) en las que se nota el aumento en el número de sacudidas conforme pasa el tiempo; por lo cual la disminución en el número de sacudidas se interpreta como efecto antinociceptivo.

Entonces podemos observar el comportamiento del curso temporal en ambas fases de la prueba, la cual presenta el área bajo la curva, representada en la figura 5.

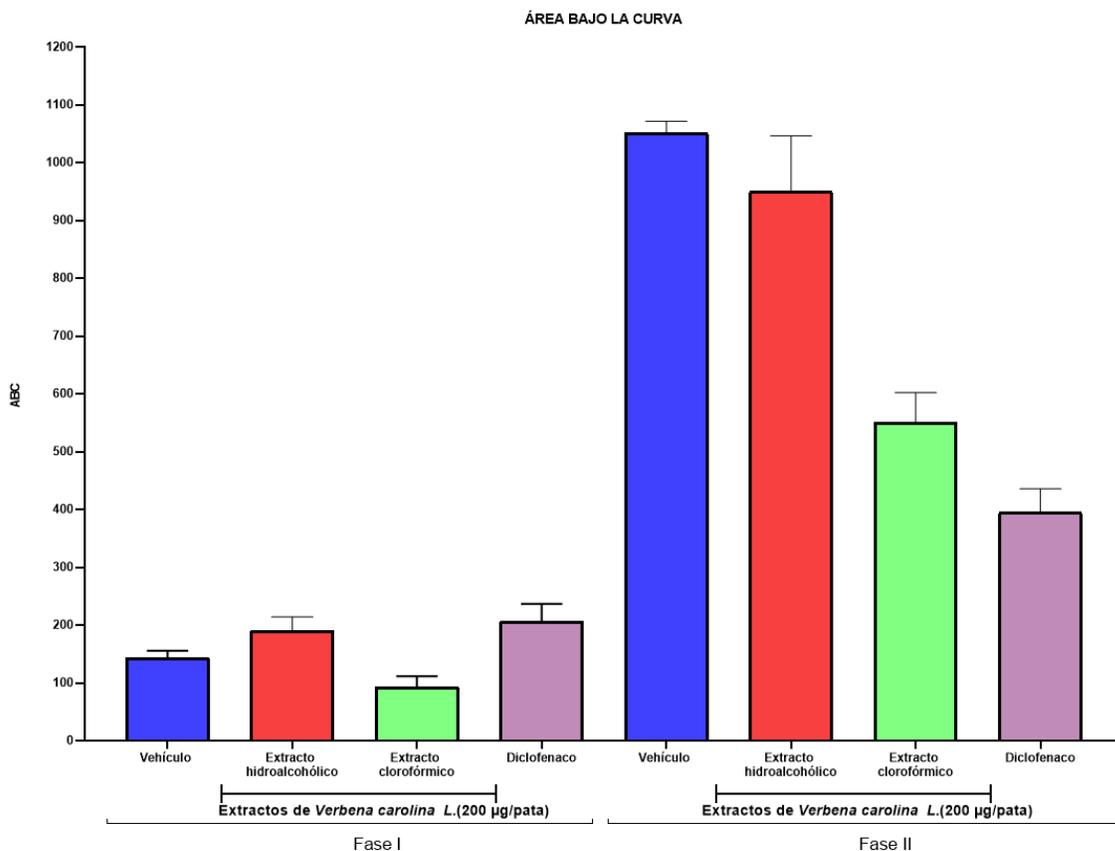


Figura 5. Área bajo la curva del número de sacudidas del extracto CHCl_3 , Hidroalcohólico y Diclofenaco en la prueba de formalina al 1% en rata. Fase I de 0-10 min tras la administración de 50 μL de formalina al 1%, Fase II 10-60 min. Los resultados están expresados como la media aritmética de los valores \pm error estándar de la media, $n=6$, $*p < (0.05)$ con respecto al grupo vehículo; ANOVA de una vía seguido de una prueba de comparaciones múltiples (Tukey).

En la figura 5 podemos observar que el grupo vehículo muestra un elevado porcentaje en el área bajo la curva en la fase II, lo cual indica que el vehículo no presentó efecto farmacológico en el modelo.

El extracto hidroalcohólico a su vez tampoco mostró actividad farmacológica, ya que su comportamiento es muy similar al del vehículo, el cual muestra un elevado número de sacudidas en la fase II, ya que en este se comienza el dolor inflamatorio según lo reportado en la literatura (Torres, J. et. al 2001).

Por otra parte, el extracto CHCl_3 mostró un efecto antinociceptivo más parecido al del grupo de referencia (diclofenaco), mostrando una disminución del área bajo la curva en ambas fases. Ya que la inyección local del extracto clorofórmico modificó notablemente la fase 2, comparado con el control diclofenaco como se observa en la figura 4 y 5, respectivamente.

En contraste la administración subcutánea de 100 µg/pata de diclofenaco produjo efecto antinociceptivo en ambas fases del modelo con un mayor porcentaje de antinocicepción en la fase II, la conducta nociceptiva obtuvo una disminución significativa del ABC en ambas fases, en comparación con el grupo vehículo.

Esto debido a que el fármaco de referencia (diclofenaco) presenta una acción antiinflamatoria, analgésica, así como antipirética en modelos animales, gracias a su mecanismo de acción, el cual se basa en la inhibición de las vías de las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2). Este mecanismo también puede estar relacionado con la inhibición de la prostaglandina sintetasa. (Bautloni, M. 2009).

En este caso se utilizó el modelo de formalina, ya que este representa el modelo de dolor de tipo inflamatorio, se fundamenta en la administración de una disolución de formaldehído (formalina), en concentraciones que van del 1 al 5%. En el cual se realiza la administración vía subcutánea, generalmente en el dorso de la pata derecha.

Este modelo describe diferentes comportamientos relacionados por la administración de la formalina en la pata derecha los cuales pueden ser sacudir, lamer o morder la pata. La representación de este modelo consta de dos fases, las cuales se representan como la primera a partir del minuto 0-10 la cual se caracteriza por conductas nociceptivas de lamida y sacudidas de la pata administrada; siendo estas el parámetro para cuantificar el grado de dolor.

Posteriormente la segunda fase inicia partir de los 15 minutos y termina a los 60 minutos después de la administración del irritante. Durante esta fase también se presentan las conductas nociceptivas de la primera fase.

La nocicepción que se observa en la primera fase se atribuye a la estimulación directa de los nociceptores, principalmente de las fibras C, se considera dolor neurogénico; así también la segunda fase (inflamatoria o tónica) a la cual se le atribuye el proceso inflamatorio desencadenado por la serotonina, histamina, bradicinina y prostaglandinas; En este caso ya se considera dolor inflamatorio.

Entonces, los resultados sugieren que la COX-1 participa en la fase inflamatoria de la prueba de la formalina. En otros estudios se ha registrado eficacia analgésica y antiinflamatoria con inhibidores selectivos de COX-2. Sin embargo, se han utilizado dosis que producen concentraciones suficientes para inhibir a la COX-1. Entonces existe la posibilidad de que la capacidad de disminuir el dolor o la inflamación de los inhibidores de COX-2 en esos trabajos sea por inhibir a la COX-1 o a mecanismos no relacionados con la COX. (Torres, J. 2001).

Se debe considerar que existen factores importantes a controlar como la temperatura; ya que a menor temperatura el proceso de inflamación puede desarrollarse más lentamente; así que se recomienda mantener una temperatura constante de 25-27°C. Otros factores que pueden afectar el experimento son sonido, olores, luz intensa, estrés.

Se puede resumir que el extracto que presenta el mejor efecto antinociceptivo es el CHCl_3 ya que los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en este extracto son iridoides y fenoles los cuales presentan propiedades antiinflamatorias según (García, A. 2012). Así mismo también podemos encontrar flavonoides a los que se les caracteriza por presentar efectos antioxidantes, antiinflamatorios y analgésicos a través de la inhibición y reducción de la expresión de las ciclooxigenasas, sintasa de óxido nítrico, prostaglandinas E2 y óxido nítrico. (Villar, G. et al 2016).

7. CONCLUSIÓN

Los extractos de la planta *Verbena carolina* L. presentan actividad antiinflamatoria y antinociceptiva; sin embargo, el extracto clorofórmico presentó un mejor desempeño que el metanólico e hidroalcohólico; en comparación con el medicamento de referencia, esto puede deberse a la polaridad de los reactivos con los que se extrajeron los extractos.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer más pruebas fitoquímicas, ya que no se contaba con todos los reactivos necesarios para realizarlas.

Se recomienda fraccionar el extracto clorofórmico para determinar en qué fracciones se encuentran los principales metabolitos secundarios que proporcionan el efecto antiinflamatorio y antinociceptivo, así como probar con un aumento de dosis para ver si el efecto se potencializa.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Armas, J. (2008). Obtención y evaluación de las propiedades citotóxicas, antiinflamatorias y su capacidad de inhibir la óxido nítrico sintasa inducible de los derivados acilados de las argentatinas A, B y la 7 -O-b-D-glucosil-aca cetina (pp. 12-17). Ciudad de México: José Emanuel Armas Pérez.
- Cerveró F. (2008) Neuroplasticity and Pain. Revista del dolor, (50), 44-48.
- Cervero F. Laird J. (1999) Visceral pain. Lancet 353:2145-2148
- Duménigo, A., Frías, A., García, N., Ramentol, R., et al (2014) Anti-inflammatory and analgesic activity of an organic extract from the red alga *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux Revista Cubana De Plantas Medicinales, 335-347.

- Enciso, E., & Arroyo, J. (2013). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *Anales De La Facultad De Medicina*, 72(4), 231.
- García, A. (2012). Estudio químico complementario de las partes aéreas de la planta medicinal *Verbena carolina* L. (Verbenaceae) (pp. 21-26). Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Jaramillo, C., Jaramillo, A., D'Armas, H., Troccoli, L., y Rojas, L. (2016). Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador. *Biología tropical*, 2-4.
- Lara, I. (2017). Efecto de la administración de un inhibidor y un inductor de la glicoproteína P durante el proceso nociceptivo en un modelo murino de formalina. (pp. 15-24). Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martín, M. y Salamanca, A. (2007). El muestreo en la investigación cualitativa. *Nure Investigación*, 1-4.
- Martínez, M. and Cano, A. Plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. Instituto de estudios Giennenses. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén p.125-163.
- Pauer, D. Park, S. Roca, M. Salazar, A. et al. (2018) Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima – Perú. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Lima, Perú (1-5).
- Perozz, F., Nava, L., Meléndez, R., & Camargo, M. (2007). Probable efecto hepatoprotector de la verbena en la hepatitis inducida con tetracloruro de carbono en la rata. *Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas*, (38), 19-25.
- Robles-García, M., Aguilar, A., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales- Del-Río, J., & Guerrero-Medina, P. et al. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri pittier*) / qualitative identification of secondary metabolites and cytotoxicity determination of tempisque extracts (Sid. Biotecnia, 18(3), 3-8.
- Salgado, C. (2016). Análisis de la actividad antioxidante de *Verbena carolina* (verbenaceae) (pp. 4-6). Ciudad de México: Cecilia Salgado Sánchez.
- Sotelo, M., Cortés, E., Cabrera, A., Piña, A. and Valencia, G., 2019. Desarrollo de una forma farmacéutica semisólida de *ibervillea*

sonorae con actividad anti-inflamatoria. Participación de la mujer en la ciencia Instituto politécnico Nacional, pp.4-5.

- Soto, M. (2014). Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia *Solanaceae*. Revista Cubana De Plantas Medicinales, 370-371
- Teena, S., Ghosi, A., Rani, A., & Pandey, R. (2017). Evaluation of Anti-inflammatory activity of *Verbena officinalis* leaf. International journal of pharmacy & life sciences, (10), 5594
- Villar, G. Juárez, E. Cruz, J. & Suarez, S. (2016). Evaluación de la actividad antinociceptiva de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de la hoja de *Montanoa tormentosa* en ratas wistar. Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad Anáhuac Querétaro, Querétaro, México. División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacán, Tabasco, México.pp.15-18
- Zegarra, J. (2007). Bases fisiopatológicas del dolor. Acta Medica Peruana.