

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 |
|--------------------|-----|-----|-----|---------------------|-----|-----|-----|

Datos del Alumno

| | |
|--|---|
| Nombre : Maximiliano Enrique Ganado Montes de Oca | |
| Matrícula : 2153061415 | Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica |
| Domicilio : Morelos 28 Col. El vergel Iztapalapa C.P.09880 | |
| Teléfono : 55 54264570 | Celular : 5581003459 |
| Correo Electrónico : abraxasplnts@gmail.com | CURP : GAMM930614HDFNNX07 |

Datos del Proyecto

| | | | | | | | |
|--|-------------|-----|------|------------------|-----|-----|------|
| Nombre del Proyecto : Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de Ipomoea Stans en un modelo de dolor inflamatorio | | | | | | | |
| Lugar donde se realizó el Servicio Social : UIDIS N-102. "Farmacocinética y Farmacodinamia | | | | | | | |
| Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco | | | | | | | |
| Entidad Federativa : Distrito Federal | | | | | | | |
| Municipio : | Localidad : | | | | | | |
| Fecha de Inicio | Día | Mes | Año | Fecha de Término | Día | Mes | Año |
| | 28 | 10 | 2019 | | 28 | 4 | 2020 |

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

| | |
|-------------------------|-------------------|
| Sector: 1.- Educativo | Tipo: 2.- Interno |
| Orientación: 10.- Otros | |

FIRMAS

Luis Alfonso Moreno Rocha 35135

Asesor Interno
 Nombre, firma y No. Económico

Osmar Antonio Jaramillo Morales

Asesor Externo
 Nombre, firma y No. Económico

Maximiliano Enrique Ganado Montes de Oca

Alumno
 Nombre, firma

Felipe Mendoza Pérez

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



Casa abierta al tiempo

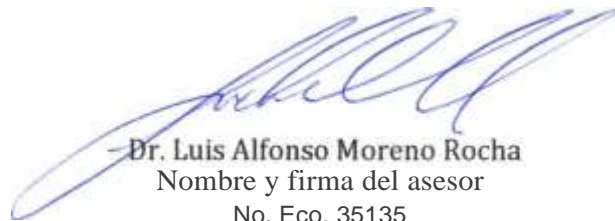
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

México, CDMX a 03 de agosto de 2021

MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
PRESENTE

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno **Maximiliano Enrique Ganado Montes de Oca** con matrícula: **2153061415** concluyó el proyecto de Servicio Social: "**Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de Ipomoea Stans en un modelo de dolor inflamatorio**", que se realizó en el laboratorio 102, "Farmacocinética y Farmacodinamia", ubicado en el edificio N (UIDIS) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco de manera virtual del 28 de octubre del 2019 al 28 de abril 2020, bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas. Sin más por el momento quedo a sus órdenes y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo

ATENTAMENTE



-Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha
Nombre y firma del asesor
No. Eco. 35135



Campus Irapuato-Salamanca

División de Ciencias
de la Vida

Irapuato, Gto., a 30 noviembre de 2021

**MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
PRESENTE**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno **Maximiliano Enrique Ganado Montes de Oca** con matrícula: **2153061415** concluyó el proyecto de Servicio Social: **“Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de Ipomoea Stans en un modelo de dolor inflamatorio”**, que se realizó en el laboratorio 102, “Farmacocinética y Farmacodinamia”, ubicado en el edificio N (UIDIS) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco de manera virtual del 24 de Septiembre de 2019 al 24 de Marzo de 2020, bajo mi asesoría, cubriendo un total de 480 horas.

Sin más por el momento quedo a sus órdenes y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

“LA VERDAD OS HARA LIBRES”

Dr. Osmar Antonio Jaramillo Morales
Profesor Titular nivel “A”
Departamento de Enfermería y Obstetricia
División de Ciencias de la Vida
Universidad de Guanajuato
SNI: Nivel 1
Número de cédula profesional: 11176253

No. de páginas: 15

Lugar de realización: Laboratorio 102. "Farmacocinetica y Farmacodinamia". UIDIS. UAM-X.

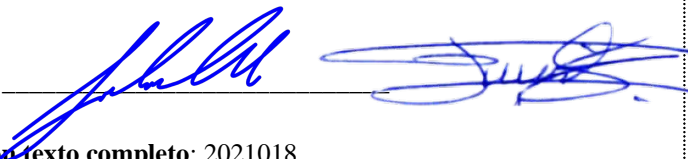
Prácticas realizadas en:

Proyecto genérico: "Evaluación de productos relacionados con la salud"

Contiene:

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Fotografías | <input type="checkbox"/> Ilustraciones |
| <input checked="" type="checkbox"/> Gráficas | <input type="checkbox"/> Mapas |
| <input checked="" type="checkbox"/> Tablas | <input type="checkbox"/> Diagramas |
| <input type="checkbox"/> Trípticos | |

Vo.Bo. Asesor:



Fecha liberación texto completo: 2021018

NOTA: La versión digital de este reporte, solo podrá ser consultada en cualquier Unidad académica de la Universidad, incluyendo a Rectoría General



UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de Ipomoea stans en un modelo de dolor inflamatorio

Asesores

Interno: Moreno Rocha, Luis Alfonso
Jaramillo Morales, Osmar Antonio

28 de Noviembre de 2021

Sistemas Biológicos
Química Farmacéutica Biológica

Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de *Ipomoea stans* en un modelo de dolor inflamatorio

,

Interno: Moreno Rocha, Luis Alfonso
Jaramillo Morales, Osmar Antonio

28 de Noviembre de 2021

15

Laboratorio 102. "Farmacocinética y Farmacodinamia". UIDIS. UAM-X.

“Evaluación de productos relacionados con la salud”

X

X

2021018



**UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Xochimilco**

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de sistemas biológicos

Licenciatura de Química Farmacéutica Biológica

Proyecto genérico: Evaluación de productos relacionados con la salud

Etapas: Implementación y estandarización del método

Título del Informe: Efecto antinociceptivo del extracto metanólico de Ipomoea stans en un modelo de dolor inflamatorio

Asesor interno: Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha

No. eco.: 35135

Firma 

Asesor externo: Dr. Osmar Antonio Jaramillo Morales

No. eco.: 73245

Firma 

Nombre del alumno: Maximiliano Enrique Ganado Montes de Oca

Matrícula: 2153061415

Lugar de realización del proyecto: Laboratorio 102. "Farmacocinetica y Farmacodinamia".UIDIS. UAM-X

Fecha de inicio: 28/Octubre/2019

Fecha de término: 28/Abril/2020

1. INTRODUCCIÓN

El dolor es un padecimiento que afecta a una gran parte de la población mundial y que a lo largo de la historia ha sido combatido de muchas maneras. En las últimas décadas el uso de opioides ha ido en aumento debido a su eficacia, sin embargo, sus efectos secundarios como adicción y tolerancia han causado un problema importante en varios países. Una alternativa a estos tratamientos se encuentra en la fitoterapia. Su origen natural y falta de efectos adversos la hacen una fuente de fármacos de interés. La planta *Ipomoea Stans*(*IS*) ha sido utilizada para tratar diferentes padecimientos desde la antigüedad y recientemente se ha demostrado que deprime el sistema nervioso central, posiblemente por la alteración del sistema Gabaérgico. En este trabajo se usó el modelo de formalina con un extracto metanólico de *IS* como tratamiento para demostrar su capacidad antinociceptiva durante el dolor inflamatorio.

1.1 Marco Teórico

1.1.1 Dolor

La definición mejor aceptada para dolor es dada por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable que está asociada a un posible daño en algún tejido”[1]. Existen distintos procesos asociados al dolor: la percepción del dolor y la nocicepción, así como consecuencias del dolor mismo como el sufrimiento o conductas derivadas del dolor [2]. Dicho lo anterior es importante señalar que el dolor es algo distinto a la nocicepción. El primero se refiere a la sensación física desagradable y el segundo es el mecanismo responsable de detectar el daño en los tejidos. La distinción resulta necesaria cuando existen casos en los que un estímulo que daña tejido no ocasiona dolor alguno o cuando la sensación de dolor ocurre sin que se sufra daño en los tejidos [3]. Como el dolor en un contexto psico-emocional [4] o el caso de la hiperalgesia donde la sensación del dolor es exagerada por el organismo y la alodinia donde un daño en el sistema nervioso central produce dolor frente a un estímulo cuando normalmente no lo haría [5].

1.1.2 Tipo de dolor y plasticidad neuronal

La plasticidad neuronal permite que las neuronas modifiquen su estructura y perfil químico de manera que se pueden experimentar distintos tipos de dolor. El dolor fisiológico es activado por fibras nociceptoras ante estímulos dañinos; el dolor neuropático proviene de lesiones en el sistema nervioso mientras que el dolor inflamatorio es causado por la inflamación o un tejido dañado [6]. Para los fines de este trabajo nos enfocaremos en el dolor inflamatorio.

1.1.3 Inflamación y nocicepción

La inflamación es el resultado de la afectación en algún tejido a nivel celular y está relacionado con el dolor, calor, rubor, hinchazón y pérdida de función de la zona afectada. El proceso de inflamación está conformado por inductores (endógenos o exógenos) que activan ciertos sensores (p.e. TLR4, IgE), que a su vez promueven la producción de mediadores específicos (p.e. TNF- α , PGE2) modificando las funciones celulares de órganos y tejidos (efectores) que les permite adaptarse y repararse [7]. Los productos de la inflamación como: serotonina (5-HT), histamina, prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos, tromboxano y bradicinina son capaces de activar los nociceptores periféricos [8] e iniciar la transformación y regulación de estas señales en dolor por medio de los procesos de transducción, transmisión, percepción y modulación [9].

El proceso de inflamación disminuye el umbral de activación de los receptores y reclutan otras fibras para funcionar como nociceptores (polimodal). La activación subsecuente de otros nociceptores amplifica la señal desde las fibras aferentes hasta las neuronas de la medula espinal donde la señal se envía al tálamo y se diferencian los estímulos dañinos de los que no lo son [10-12].

1.1.4 Tratamiento del dolor y fitoterapia

A lo largo del tiempo los seres humanos han interpretado y tratado el dolor de distintas maneras [13]. No obstante, a pesar de tener cierto grado de toxicidad, los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) se han posicionado como fármacos de primera línea para el tratamiento del dolor debido a su eficacia y su relativa seguridad. Usualmente acompañados de opioides cuando no brindan alivio suficiente [14]. En contra parte, la medicina alternativa ha ofrecido el uso de plantas medicinales, utilizadas de distintas maneras y vías de administración (p.e. ungüento de árnica), como tratamiento del dolor inflamatorio funcionando como paliativo [15]. En las últimas décadas, gracias a los avances tecnológicos, se ha logrado identificar y aislar los principios activos de distintas plantas medicinales haciendo posible la aplicación de terapias a base de distintos productos de origen vegetal. La fitoterapia hace uso de compuestos mezclados o aislados como parte del tratamiento y la evidencia sobre su uso y efectividad está registrada en distintos estudios, siendo ocupada en varias ramas de la medicina. Distintos países tanto europeos como latinoamericanos tienen apartados legales que regulan estas prácticas [16]. Los estudios y regulaciones a estos tratamientos han sido necesarios para poder prevenir posible efector adversos [17].

1.1.5 Ipomoea stans

“Tumba vaqueros”, “cacastlapa”, “espanta lobos”, son algunos nombres comunes que tiene, *Ipomoea stans*, una planta distribuida en el Bajío, occidente y centro de México de la familia *Convolvaceae* [18]. En México se ha utilizado de manera tradicional para el tratamiento de epilepsia, nefritis, enfermedades oculares, parálisis, como antiespasmódico y como agente sedante. Actualmente se conocen algunas propiedades de diferentes extractos de distintas partes de la planta. Por ejemplo, el extracto hidroalcohólico de las raíces de *Ipomoea stans* tiene propiedades anticonvulsivas en ratas; así mismo un extracto de etilacetato de las raíces ha mostrado deprimir el sistema nervioso central [19], la administración de extracto de acetil acetato de la planta promovía un aumento en la cantidad de GABA [20].

2. Planteamiento del problema

El dolor es una de las principales causas por las cuales los pacientes suelen visitar al médico [21, 22] y una fuente de angustia para el individuo que lo sufre. En los humanos usualmente es más importante esta aflicción que el dolor sensorial por sí mismo [23]. Un mal manejo del dolor puede tener efectos adversos muy distintos desde complicaciones medicas severas, hasta ansiedad o depresión disminuyendo la calidad de vida [24]. Así mismo es la principal causa de ausentismo, subempleo y desempleo [22]. Por otro lado, el uso de los analgésicos tradicionales puede provocar efectos adversos que son potencialmente serios, desde enfermedades cardiovasculares o gastrointestinales, o el desarrollo de tolerancia y dependencia en el caso del uso de opiáceos [25, 26].

Hoy en día en nuestro país, la medicina tradicional es una opción muy utilizada por la población para el tratamiento de diferentes padecimientos, debido a que los servicios de salud en México, principalmente en las comunidades más alejadas de la mancha urbana, a causa de que son insuficientes, o por que las personas que viven en las comunidades, no cuentan con los recursos económicos para utilizar un servicio médico particular [27]. Este último problema lo presentan las comunidades con bajos recursos de nuestro país que recurren al uso de plantas medicinales para tratar diversas enfermedades; cabe mencionar que para el 45% de la población nacional, la medicina tradicional es el único recurso con el que cuentan, además de los rituales de curación que les hacen los curanderos. Para otro 45% de la población complementan la herbolaria con alopátia o viceversa, complementan la alopátia con herbolaria.

3. Justificación

El dolor al igual que la inflamación, forma parte de los sistemas que tiene el organismo para mantener la homeostasis, ya que en condiciones normales tiene

una función protectora, como de defensa o alarma para proteger al organismo y aumentar la supervivencia del individuo [28], sin embargo, existen 5 patologías en las que el dolor se convierte en el centro de la enfermedad [29].

Para el tratamiento de estos síntomas en la actualidad se utilizan dos clases de fármacos. Los fármacos esteroidales y los no esteroidales (AINES), sin embargo si son administrados de forma prolongada pueden presentar reacciones adversas como: estreñimiento, sedación, depresión respiratoria, alucinaciones, inducen disminución de la competencia inmunológica, supresión inespecífica de la respuesta inflamatoria, incrementan la producción de ácido clorhídrico y pepsina [30, 31], inducen la producción de úlcera gástrica, y presentan toxicidad gastrointestinal y renal, estos efectos se deben, a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el estómago o en la médula renal [32].

Lo anterior justifica la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antiinflamatoria y antinociceptiva que presenten menos efectos adversos y las plantas medicinales representan una fuente importante de moléculas para el desarrollo de nuevos fármacos y/o medicamentos con menos efectos secundarios. México cuenta con una gran diversidad vegetal, de la cual solo muy pocas especies cuentan con estudios formales que ratifiquen su actividad biológica.

El empleo alternativo de plantas medicinales en la terapia antinociceptiva permite, en muchos casos, mejorar el proceso patológico y en otros resolverlo sin llegar a producir efectos indeseados. Entre las ventajas de la fitoterapia frente a la farmacoterapia, además de la carencia de los efectos indeseables, existe la posibilidad de actuar a diferentes niveles en el proceso inflamatorio, ya que, si bien la potencia farmacológica del principio activo de la planta suele ser netamente inferior a la del fármaco de síntesis, la variedad de principios permite una acción aditiva o potenciadora de los efectos farmacológicos entre los distintos principios activos. A pesar de que el uso de medicamentos analgésicos ha resultado efectivo ofreciendo alivio, muchos pacientes optan por tomar una terapia alternativa y complementaria [33] ya que en países como Reino Unido y Estados Unidos las muertes por efectos secundarios causados por medicamentos alopáticos se encuentran entre las primeras causas de muerte. En este sentido el aumento en el uso de los AINES ha mostrado que tienen cierto grado de toxicidad gastrointestinal [34] aunado al hecho de que casi la mitad de las prescripciones vienen co-prescritas con gastro protectores lo cual incrementa el gasto para el paciente y el riesgo de daño hepático [35]. Adicionalmente, cuando el tratamiento con los analgésicos convencionales no es eficiente, se recurre al uso de medicamentos opioides, los cuales son conocidos por una gran lista de efectos adversos, incluidas la tolerancia, adicción y hasta la muerte. A pesar de ser medicamentos controlados, el su mal uso

de los opioides, así como su gran capacidad adictiva, los han convertido en un problema de salud que resulta muy costoso y que afecta a cientos de miles de personas [36].

4. HIPÓTESIS

El extracto metanólico de *Ipomoea stans* al ser evaluado en la prueba de formalina en rata presentará efectos antinociceptivos dependientes de la dosis.

5. OBJETIVO

5.1 Objetivo General

Determinar mediante la prueba de formalina en ratas la actividad antinociceptiva del extracto metanólico de *Ipomoea stans*.

5.2 Objetivos específicos

Desarrollar el método de formalina utilizando diclofenaco como fármaco estándar.

Evaluar la capacidad antinociceptiva del extracto metanólico de *Ipomoea stans* comparándolo con el estándar utilizando el modelo de formalina.

Evaluar la capacidad antinociceptiva de un extracto metanólico de *Ipomoea stans* a diferentes concentraciones utilizando el método de formalina.

6. Material y métodos

6.1 Origen y tratamiento del extracto

6.1.1 Colecta y manejo del material vegetal

Las partes aéreas de *Ipomoea stans* fueron colectadas en el municipio de Mineral de la Reforma, Estado de Hidalgo. Una vez colectada, la planta fue trasladada al área de Farmacia en el Instituto de Ciencias de la Salud (ICSa) de la UAEH, para su limpieza y deshidratada a 20-25 °C en un ambiente protegido de la luz solar, hasta completa sequedad. Para la limpieza, se retiraron aquellas especies colectadas accidentalmente y que no corresponden al material botánico de estudio. A su vez, se separaron flores y semillas. Al conseguir la completa deshidratación, las partes aéreas de *Ipomea stans* fueron pasadas a través de un molino eléctrico para reducir el tamaño de la partícula y homogenizar la muestra, para su posterior maceración con metanol (Merck, Alemania).

6.1.2 Obtención de extracto crudo

Las partes aéreas, secas y molidas de *Ipomoea stans* se maceraron en metanol durante 2 semanas, en una relación de 4 L de disolvente/500 g de muestra. Posteriormente, el macerado se filtró y concentró en un rotavapor a presión reducida (Büchi, Switzerland) a una temperatura de 40 °C, para la remoción del disolvente y obtención del extracto crudo.

6.1.3 Tratamiento del extracto

El extracto crudo fue recuperado y disuelto mediante sonicación con tween80 al 1% para obtener las diferentes dosis ocupadas en el experimento, tomando en cuenta la administración de 5mL/kg vía i.p. con las dosis de 316 mg/kg y 177.8 mg/kg. Así mismo se administró diclofenaco como fármaco estándar en 3 dosis diferentes: 31.6, 56.2 y 100 mg/kg, empleando como vehículo en solución salina.

6.2 Animales

Se utilizaron Ratas Wistar de entre 180 y 200 g obtenidas de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana plantel Xochimilco. Las cuales fueron criadas bajo condiciones controladas: temperatura preestablecida de 19-22°C; una humedad relativa del 45-65%; un fotoperiodo de luz 12 h de luz y 12 h de oscuridad y alimentados con 5012 Rat Chow Purina®.

Todos los experimentos se llevaron a cabo siguiendo las recomendaciones del Comité de investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor; los Lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales [37, 38] y acordes a un protocolo experimental que cumple con los requisitos establecidos en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 [39].

6.3 Evaluación del efecto Antinociceptivo

Para la evaluación del efecto antinociceptivo se utilizó el modelo experimental de la prueba de formalina al 1% reportado por Gong et al en el 2014 [40], con algunas variaciones, ya que es un modelo útil para la detección de nuevos compuestos, debido a que abarca los mecanismos inflamatorios, neurogénicos y centrales de la nocicepción. Los animales se colocaron en cilindros de observación transparentes de acrílico de 30x30x60 cm, por un periodo de 30 minutos, con la finalidad de permitirles ambientarse a su entorno. Después de este periodo, se administró por la vía subcutánea, 100 µL de formalina al 1% en la superficie plantar de la pata trasera derecha con una aguja de calibre 26. La formalina fué preparada partir de una solución de formaldehído al 37% disponible comercialmente y diluida en solución

salina isotónica. Posterior a la administración de la formalina, los animales se colocaron nuevamente en el cilindro y se cuantificó la conducta dolorosa a intervalos de 1 min cada 5 min, durante 60 min. Las conductas relacionadas con el estímulo nociceptivo se cuantificaron mediante la determinación de la incidencia de sacudidas espontáneas de la pata inyectada o el tiempo acumulado de lamidas de la pata inyectada (frecuencia de sacudidas/lamidas). Se determinaron las conductas nociceptivas cada 5 minutos, contabilizando las frecuencias de dicho comportamiento. Los datos se registraron para la fase aguda temprana (fase 1) durante un periodo de 0 a 10 minutos después de la inyección y la fase tónica tardía (fase 2) durante un periodo que comprende de los 10 a los 60 minutos posteriores a la inyección de formalina. Todos los experimentos se llevaron a cabo a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Al final del experimento los animales fueron sacrificados en cámara de CO_2 .

6.4 Diseño experimental

Para el análisis de la prueba se utilizó una videocámara para registrar el comportamiento del animal. Se formaron 2 grupos: 10 ratas para la dosis de 316 mg/kg y 8 para 177.8 mg/kg. También fue necesaria la administración del vehículo a un grupo control y la aplicación de la prueba a tres grupos administrados con dosis escaladas de diclofenaco como estándar (31.6 mg/kg, 56.2 mg/kg y 100 mg/kg). A cada individuo de los grupos se le administró por vía oral 5 mL/kg de extracto acuoso de *I. stans* (316.2 mg/kg, y 177.8 mg/kg respectivamente).

El tiempo de lamida y el número de sacudidas obtenidos en la fueron tratados por separado calculando el ABC de las fases 1 y 2 de la prueba. Se calculó el porcentaje de inhibición de todas las curvas. La actividad nociceptiva se evaluó con el cálculo del porcentaje de inhibición con la siguiente fórmula ocupando las medias de los distintos grupos:

$$\% \text{Antinocicepción} = \left(\frac{ABC_{vehículo} - ABC_{tratamiento}}{ABC_{vehículo}} \right) \times 100$$

Las observaciones se graficaron comparando el número de sacudidas y el tiempo de lamidas con respecto al tiempo y se compararon con el control y con el fármaco de referencia (diclofenaco).

6.5 Evaluación estadística

Los resultados de la evaluación de la actividad antinociceptiva fueron expresados como la media aritmética de los valores \pm SEM, se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los grupos, así

como la prueba complementaria de Tukey para comparaciones múltiples. Los resultados con una $p < 0.05$ se consideraron significativos.

7. Resultados

En el modelo de formalina al 1% en rata, la inyección subcutánea de formalina produce una respuesta dolorosa caracterizada por la sacudida de la pata inyectada, en este modelo la disminución en el número de sacudidas se interpreta como efecto analgésico o antinociceptivo. La fase 1 de la prueba comienza justo después de la administración de formalina hasta el minuto 10, después de eso hasta el minuto 60 es la fase 2. En el curso temporal de los tiempos de lamida registrados (Figura 1) ambos tratamientos con *Ipomoea Stans* (*IS*) muestran un efecto dependiente de la dosis, sin embargo, la curva de *IS* 177.8 mg/kg muestra una disminución mayor en comparación a todos los demás tratamientos en la primera fase del experimento y aumenta hacia el min 20, después la frecuencia del tiempo de lamida comienza a disminuir hasta llegar a 0 en el min 50. Adicionalmente una prueba de Tukey realizada demostró la similitud de ambas concentraciones de extracto de *IS* entre ellas y entre la administración de diclofenaco con 56.2mg/kg y 100mg/kg.

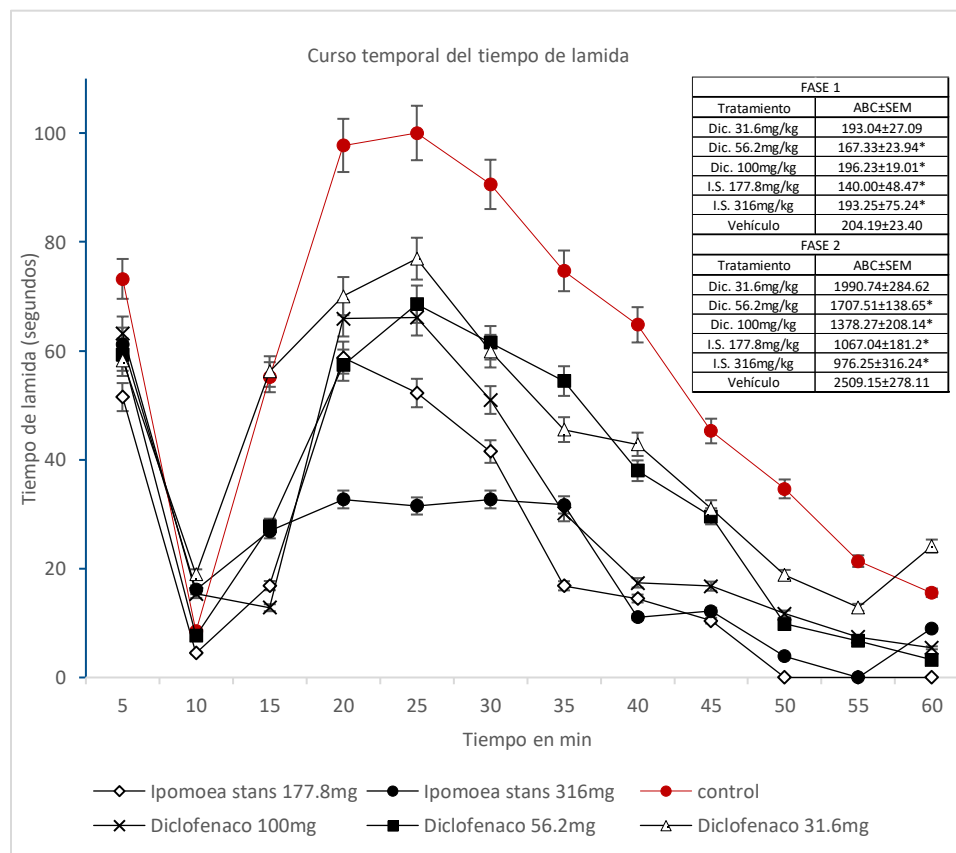


Figura 1. Curso temporal del tiempo de lamida con los distintos tratamientos: Dic.(diclofenaco), I.S.(*Ipomoea Stans*). Los datos con * son similares entre si según la prueba de Tukey

Al graficar el número de sacudidas en función del tiempo se obtiene la Figura 2 donde se puede observar la conducta bifásica (la primera fase de 0-10 min y la segunda fase de 10-60 min después de la inyección de formalina) característica del modelo. En la figura, también se muestra los resultados obtenidos del grupo vehículo (Sol. Salina), diclofenaco (31.6 mg/kg, 56.2 mg/kg y 100 mg/kg) así como del extracto (316.2 mg/kg, y 177.8 mg/kg). La administración local de diclofenaco disminuyó el número de sacudías en ambas fases del modelo en comparación con el grupo vehículo. Así mismo la administración de extracto de IS en ambas concentraciones.

En el curso temporal, el número de sacudidas muestra una notable disminución en ambas fases del experimento con las concentraciones de 177.8 mg/kg y 316.2 mg/kg de extracto de *I. stans* con respecto al control y a las distintas concentraciones de diclofenaco, aunque no muestran diferencias significativas entre ambas concentraciones de extracto. En esta ocasión el extracto con la concentración de 316.2mg/kg logra reducir a 0 el número de sacudidas prácticamente desde el minuto 50. Además, se realizó una prueba de Tukey con los datos del número de sacudidas mostrando similitud entre las curvas obtenidas con la administración de diclofenaco a 100mg/kg y ambas concentraciones de extracto de *IS* (177.8mg/kg y 316mg/kg).

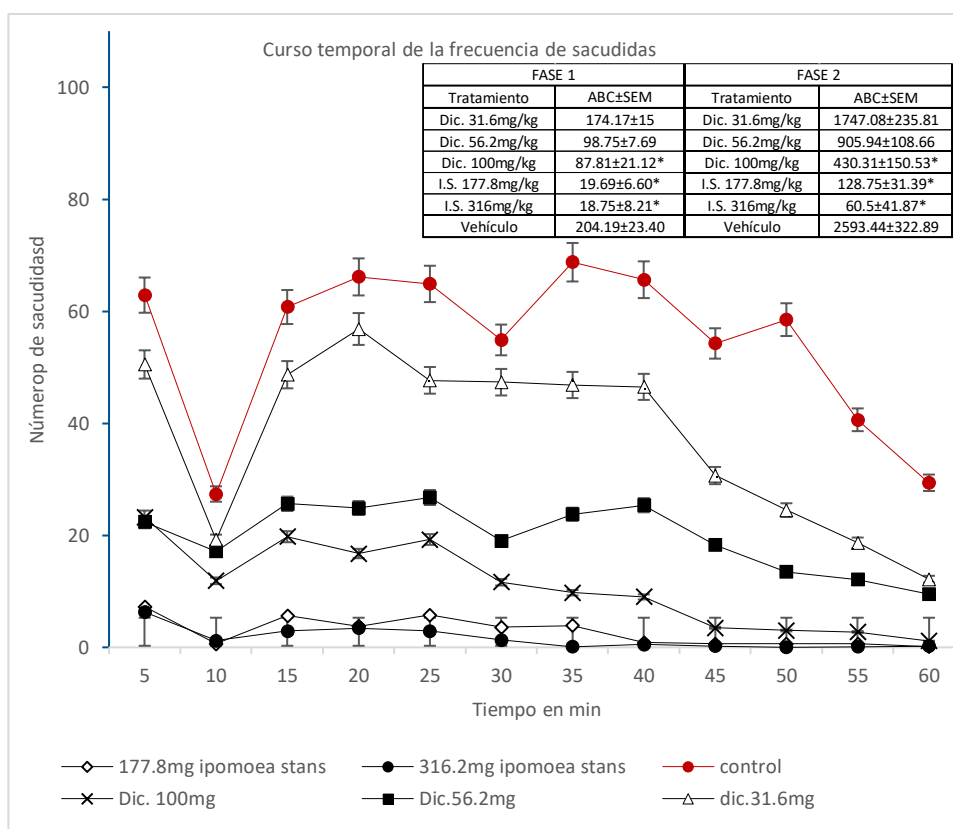


Figura 2. Curso temporal de las sacudidas con los distintos tratamientos: Dic.(diclofenaco),I.S.(Ipomoea Stans).Los datos con * son similares entre si según la prueba de Tukey.

El porcentaje de inhibición de la primera fase en el tiempo de lamida resultado de la administración de 177.8mg/kg de IS se muestra superior en comparación del porcentaje de inhibición de las distintas dosis de diclofenaco. Mientras que, durante la segunda fase, la concentración de 316mg/kg de IS se muestra superior a la de 177.8mg/kg y al diclofenaco a 56.2mg/kg y 100mg/kg, pero inferior al diclofenaco con 31.6mg/kg.

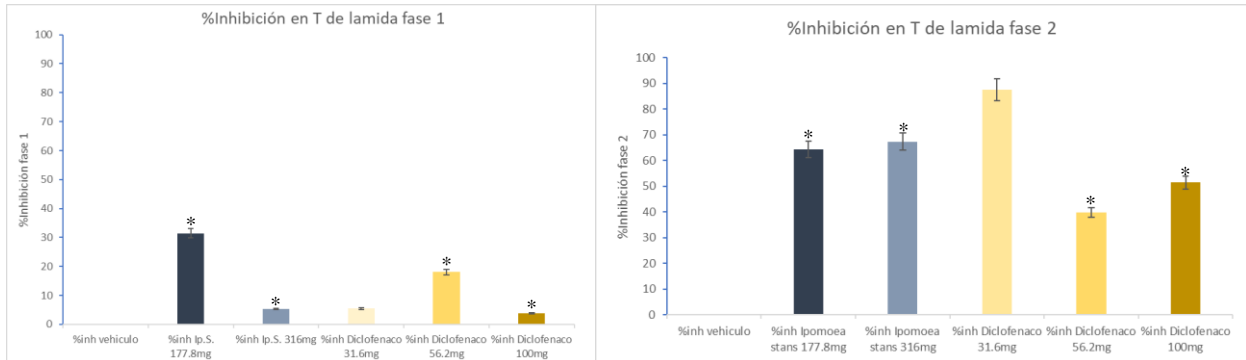


Figura 3. Porcentaje de inhibición de ambas fases tomando en cuenta el tiempo de lamida. Los valores con * fueron significativamente similares $p < 0.05$.

En la figura 4 se muestra el porcentaje de inhibición tomando en cuenta el número de sacudidas en ambas fases. Se puede observar que las dos concentraciones de IS presentan un porcentaje de inhibición mayor que las tres dosis distintas de diclofenaco en las dos fases del experimento sin mostrar diferencia significativa entre ambas.

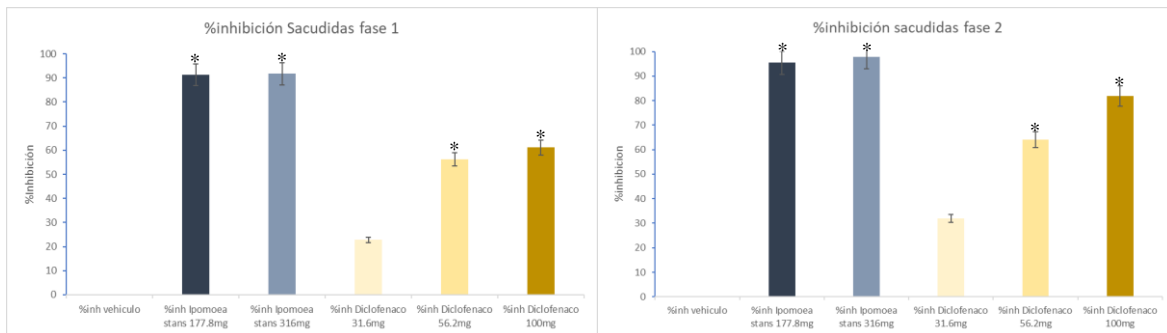


Figura 4. Porcentaje de inhibición de ambas fases tomando en cuenta el número de sacudidas. Los valores con * fueron significativamente similares $p < 0.05$.

8. Discusión

La prueba de la formalina ha sido ampliamente usada para la cuantificación del comportamiento antinociceptivo desde su descripción por Dubuisson y Dennis en 1977. En esta, los comportamientos de interés son el tiempo de lamida de la pata a la cual se le administro la formalina y el número de ocasiones que el animal sacude

dicha extremidad. La diferenciación de ambas fases de la prueba, donde la primera fase corresponde a la activación directa de receptores aferentes nociceptivos y la segunda a la activación de los aferentes como resultado del proceso inflamatorio [42], esta diferencia se hace notoria en las figuras 1 y 2 en el rango de los 10-15 minutos donde el proceso de nocicepción comienza gracias a distintos procesos en la medula espinal y distintos mediadores como prostaglandinas, la sustancia P o la bradicinina. Además es notoria la susceptibilidad de la medición del tiempo de lamida comparada con las sacudidas [43], esto se puede apreciar en ambas figuras ya que la frecuencia del número de sacudidas muestra comportamientos distintos bien definidos y dependientes de la dosis, mientras que la gráfica que representa el tiempo de lamida presenta curvas apenas distintas entre las concentraciones de diclofenaco. A pesar de lo anterior, los extractos de *IS* presentan un mayor efecto antinociceptivo al tener un ABC menor que el estándar y el vehículo. Sin embargo, en la figura 3 muestra que el porcentaje de inhibición de 31.6mg/kg de diclofenaco es superior a los otros tratamientos, aunque es importante recordar que el comportamiento de la sacudida es más preciso para cuantificar la nocicepción. Dicho lo anterior y para fines de este trabajo es de mayor interés la fase dos del modelo, enfocándonos en las sacudidas. En la figura 4 todos los tratamientos muestran un comportamiento dependiente de la dosis, pero las concentraciones de 177.8mg/kg y 316mg/kg tienen un porcentaje de inhibición similares entre si y superior a todos los tratamientos con un 95.4% y 97.8% respectivamente.

| Tratamiento | Media±SEM | %Inhibición |
|-----------------------|----------------|-------------|
| Diclofenaco 31.6mg/kg | 1747.08±235.81 | 31.9* |
| Diclofenaco 56.2mg/kg | 905.94±108.66 | 64.0* |
| Diclofenaco 100mg/kg | 430.31±150.53 | 81.9* |
| <i>IS</i> 177.8mg/kg | 128.75±31.39 | 95.4* |
| <i>IS</i> 316mg/kg | 60.5±41.87 | 97.8* |
| Vehículo | 2593.44±322.89 | - |

Tabla 1. Tomando en cuenta las sacudidas en la fase 2 del experimento se muestran las medias ± el error estándar medio (SME), n=8, con P<0.05; comparado con el control.

Aunque no hay muchos estudios realizados con la planta *IS*, Herrera [20] sugiere que la administración de extracto de etil acetato de raíces de *IS* puede tener propiedades antinociceptivas a través del sistema GABAérgico. Esto concuerda con la afirmación de Jia [44], las terminales GABA en el núcleo de tálamo activan el sistema descendente inhibitorio corteza orbitaria ventrolateral-tronco encefálico gris periodontal (PAG) y deprime los receptores nociceptivos a nivel de la medula espinal. Aun así, hacen falta estudios para conocer los principios activos y componentes de *IS* para tener un mejor panorama respecto a la actividad que este extracto desencadena ya que el dolor debido al proceso inflamatorio depende de la plasticidad neuronal del individuo y de la amplia gama de mediadores inflamatorios

como citocinas, factores de crecimiento, histamina, bradicinina, histamina, 5-HT, ATP y óxido nítrico, resultando en una sensibilización periférica [45].

BIBLIOGRAFÍA

1. Venturella, I. and M. Balconi, *Pain and Consciousness in Humans. Or Why Pain Subserves the Identity and Self-representation*. Rivista internazionale di Filosofia e Psicologia, 2016. **7**(2): p. 166-179.
2. Loeser, J.D. and R. Melzack, *Pain: an overview*. The lancet, 1999. **353**(9164): p. 1607-1609.
3. Dowlati, E. *Spinal cord anatomy, pain, and spinal cord stimulation mechanisms*. in *Seminars in spine surgery*. 2017. Elsevier.
4. Møller, A.R., *Neural plasticity and disorders of the nervous system*. 2006: Cambridge University Press.
5. Merskey, H., *Part III pain terms, a current list with definitions and notes on usage*. Classification of chronic pain-descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms, 1994: p. 207-214.
6. Woolf, C.J. and M.W. Salter, *Neuronal plasticity: increasing the gain in pain*. science, 2000. **288**(5472): p. 1765-1768.
7. García, B.P., *Inflamación*. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat.(Esp) Vol, 2008. **102**: p. 91-159.
8. Romera, E., et al., *Neurophysiology of pain*. Rev Soc Esp Dolor, 2000. **7**(II): p. 11-17.
9. Berry, P.H., et al., *Pain: current understanding of assessment, management, and treatments*. National Pharmaceutical Council and the Joint Commission for the Accreditation of Healthcare Organizations, VA, USA, 2001: p. b44.
10. Chapman, C.R. and Y. Nakamura, *A passion of the soul: an introduction to pain for consciousness researchers*. Consciousness and Cognition, 1999. **8**(4): p. 391-422.
11. D'Mello, R. and A.H. Dickenson, *Spinal cord mechanisms of pain*. British journal of anaesthesia, 2008. **101**(1): p. 8-16.
12. Guilbaud, G., J. Bernard, and J. Besson, *Brain areas involved in nociception and pain*. Textbook of pain, 1994. **3**: p. 113-128.
13. Sabatowski, R., et al., *Pain treatment: a historical overview*. Current pharmaceutical design, 2004. **10**(7): p. 701-716.
14. García-Andreu, J., *Manejo básico del dolor agudo y crónico*. Anestesia en México, 2017. **29**: p. 77-85.
15. Yarnell, E., *Phytotherapy for the treatment of pain*. Modern Phytotherapist, 2002. **7**(1): p. 1-12.
16. Cañigüeral, S., E. Dellacassa, and A.L. Bandoni, *Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿ indicadores de dependencia o factores de desarrollo?* Acta farmacéutica bonaerense, 2003. **22**(3): p. 265-279.
17. Ferreira, T., et al., *Phytotherapy: an introduction to its history, use and application*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2014. **16**(2): p. 290-298.

18. Vibrans, H. and P. Tenorio-Lezama, *Malezas de México*. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/paginas/lista-plantas.htm>, 2009.
19. Meira, M., et al., *Review of the genus Ipomoea: traditional uses, chemistry and biological activities*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2012. **22**(3): p. 682-713.
20. Herrera-Ruiz, M., et al., *Central nervous system depressant activity of an ethyl acetate extract from Ipomoea stans roots*. Journal of ethnopharmacology, 2007. **112**(2): p. 243-247.
21. Mäntyselkä, P., et al., *Pain as a reason to visit the doctor: a study in Finnish primary health care*. Pain, 2001. **89**(2-3): p. 175-180.
22. Pain Society, A., *Pain Assessment and Treatment in the Managed Care Environment*. The Case Manager, 2000. **11**(5): p. 50-53.
23. Świeboda, P., et al., *Assessment of pain: types, mechanism and treatment*. Pain, 2013. **2**(7).
24. Becker, N., et al., *Pain epidemiology and health related quality of life in chronic non-malignant pain patients referred to a Danish multidisciplinary pain center*. Pain, 1997. **73**(3): p. 393-400.
25. Samuelsen, P.-J., *Use of analgesics in the general population: Trends, persistence, high-risk use and associations with pain sensitivity*. 2016.
26. Volkow, N.D. and A.T. McLellan, *Opioid abuse in chronic pain—misconceptions and mitigation strategies*. New England Journal of Medicine, 2016. **374**(13): p. 1253-1263.
27. Ocegueda, S., E. Moreno, and P. Koleff, *Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica*. Biodiversitas, 2005. **62**: p. 12-15.
28. Bataille, E. and R. Chausset, *Pain. Neurophysiological basis*. Soins; la revue de reference infirmiere, 1997(614): p. 6-8.
29. Ortega, A., A. Roca, and J. Micó, *Modelos animales de dolor. Una visión crítica*. Rev. Soc. Esp. Dolor, 2002. **9**: p. 447-453.
30. Bourke, E. and P.N. Moynagh, *Antiinflammatory effects of glucocorticoids in brain cells, independent of NF- κ B*. The Journal of Immunology, 1999. **163**(4): p. 2113-2119.
31. Rhen, T. and J.A. Cidlowski, *Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(16): p. 1711-1723.
32. Bremner, P. and M. Heinrich, *Natural products as targeted modulators of the nuclear factor-KB pathway*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2002. **54**(4): p. 453-472.
33. Zareba, G., *Phytotherapy for pain relief*. Drugs of today (Barcelona, Spain: 1998), 2009. **45**(6): p. 445-467.
34. Belmonte, M., et al., *Enfermedades Reumáticas actualización SVR, Valencia, 2013*. Ibañez & plaza asociados sl, 2013.
35. Lanás, A. *Efectos secundarios gastrointestinales por antiinflamatorios no esteroideos y costes en el Sistema Nacional de Salud*. in *Anales de Medicina Interna*. 2001. SciELO Espana.
36. Friedman, S.R., et al., *The opioid/overdose crisis as a dialectics of pain, despair, and one-sided struggle*. Frontiers in public health, 2020. **8**.

37. Zimmermann, M., *Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals*. *Pain*, 1983. **16**(2): p. 109-110.
38. Council, N.R., *Guide for the care and use of laboratory animals*. 2010.
39. NOM-062-ZOO-, N.O.M. and E.T.P. LA PRODUCCION, *Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. 1999, Diario Oficial de la Federación México.
40. Gong, N., et al., *Pain assessment using the rat and mouse formalin tests*. *Bio-protocol*, 2014. **4**(21): p. e1288-e1288.
41. Wheeler-Aceto, H. and A. Cowan, *Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics*. *Psychopharmacology*, 1991. **104**(1): p. 35-44.
42. Dubuisson, D., & Dennis, S. G. *The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats*. *Pain*.1977. **4**(Supp C).p. 161–174.
43. Tjølsen, A., Berge, O.-G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., and Hole, K. *The formalin test: an evaluation of the method*. 1992. *Pain*. **51**(1): p. 5–17.
44. Jia, H., Xie, Y.-F., Xiao, D.-Q., & Tang, J.-S.. *Involvement of GABAergic modulation of the nucleus submedius (Sm) morphine-induced antinociception*. *Pain* .2004.**108**(1): p. 28–35.
45. Kidd, B., Urban, L., *Mechanisms of inflammatory pain*, *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 1 Junio 2001, **87**(1): p. 3–11.