



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Efecto del extracto de *Eupatorium petiolare* sobre el edema auricular y edema plantar

Proyecto genérico correspondiente: Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos

Alumno:

Miguel Angel Flores Loyo

Asesor interno: Dr. Miguel Angel Zavala Sánchez

Asesor externo: M. en C. Estanislao Jiménez Pérez

CONTENIDO

1	Resumen.....	3
2	Introducción.....	4
3	Marco teórico.....	5
3.1	La inflamación y el dolor en México como un problema de salud pública	5
3.2	Dolor	5
3.2.1	Panorama histórico de la definición de dolor.....	5
3.2.2	Panorama actual de la definición de dolor	6
3.2.3	Clasificación de dolor.....	7
3.3	Inflamación.....	8
3.3.1	Fases de la inflamación.....	9
3.4	Fármacos utilizados para el tratamiento de la inflamación y dolor	10
3.4.1	Indometacina	12
3.4.2	Diclofenaco	14
3.5	Productos naturales	15
3.5.1	Género Ageratina (<i>Eupatorium</i>).....	16
3.5.2	<i>Eupatorium petiolare</i>	16
3.6	Estudios experimentales actividad antiinflamatoria y antinociceptiva	16
4	Objetivos	17
4.1	Objetivo General:.....	17
4.2	Objetivos Específicos:	17
5	Materiales y métodos	17
5.1	Obtención del extracto.....	17
5.2	Evaluación farmacológica de la actividad antiinflamatoria	17
5.2.1	Edema auricular inducido por aceite de croton de ratón CD1	17
5.2.2	Edema plantar inducido por carragenina en ratón CD1	18
5.2.3	Prueba de formalina al 1 % en ratas Wistar	18
5.3	Análisis estadístico.....	18
6	Resultados y discusión	19
6.1	Obtención de los extractos	19
6.2	Efecto Antiinflamatorio (Edema auricular inducido por aceite de croton).....	19
6.3	Efecto antiinflamatorio (Edema plantar inducido por carragenina).....	22
6.4	Efecto antinociceptivo (Formalina 1%)	25

7	Conclusión	28
8	Recomendaciones	28
9	Referencias	29

1 Resumen

Para realizar este trabajo se empleó la planta *Eupatorium petiolare*, la cual se encuentra ampliamente distribuida en el centro y sur de México; esta fue recolectada San Antonio pueblo nuevo en el Estado de México. Se obtuvieron 2 extractos: hidroalcohólico y acetónico a los cuales se les evaluó su actividad antiinflamatoria (edema auricular inducido por aceite de crotón y edema plantar inducido por carragenina) y antinociceptiva (prueba de formalina al 1 %).

La actividad antiinflamatoria se midió a través del modelo experimental edema auricular inducido por aceite de crotón y edema plantar inducido por carragenina en ratones macho CD1 en los cuales se utilizó como fármaco de referencia indometacina, las vías de administración para los extractos fueron por vía tópica en el primer modelo, presentando mayor actividad antiinflamatoria el extracto acetónico 52.41, 68.7 y 63.4 % de inhibición del edema a tres dosis (1.77, 31.6 y 5.62 mg/oreja), mientras que el extractos hidroalcohólico no presento una actividad farmacológica estadísticamente, tomando en cuenta estos datos, se decidió solo continuar con el extracto acetónico para la actividad antiinflamatoria por vía de administración oral y actividad antinociceptiva por vía de administración subcutánea.

El modelo edema plantar inducido por carragenina fue implementado para medir la actividad antiinflamatoria por vía de administración oral, los grupos (carragenina 1 %, vehículo [sol. salina + tween 2 %], extracto a tres dosis diferentes [31.6, 100 y 316.2 µg/pata] y diclofenaco [100 µg/pata] mostrando una Inhibición de edema del 4.93 ± 0.95 , 4.72 ± 1.71 y $3.01 \pm 1.02\%$ respectivamente con respecto a los extractos, con esto podemos decir que la extracción con el disolvente de acetona no tiene efecto antiinflamatorio al ser utilizado por administración vía oral.

El modelo para medir la actividad antinociceptiva fue mediante la prueba de formalina al 1 %, los grupos (formalina 1%, vehículo [sol. salina + DMSO al 5%], extracto a tres dosis diferentes [31.6, 100 y 316.2 µg/pata] y diclofenaco [100 µg/pata]) fueron administrados vía subcutánea, teniendo las siguientes respuestas de porcentajes de Antinocicepción; en la fase I fue de 79.54 ± 6.47 , 76.03 ± 4.82 y 74.34 ± 4.84 % respectivamente y en la fase II fue de 66.86 ± 3.75 , 64.2 ± 5.4 y 58.58 ± 3.17 % respectivamente mostrando actividad nociceptiva en ambas fases del modelo, teniendo mayor similitud con el fármaco de referencia.

Palabras clave: *Ageratina*, *E.petiolare*, extracto, antinociceptiva, antiinflamatoria

2 Introducción

La inflamación y el dolor se manifiestan como sensaciones desagradables que puede estar asociado con una amplia gama de lesiones y enfermedades, afectando aproximadamente al 20 % de los adultos en el mundo y a pesar de todos los avances en las terapias muchos pacientes continúan lidiando con síntomas continuos que no se alivian por completo con la ayuda de los tratamientos que la medicina convencional tiene para ofrecerles (Boyd A., *et al*, 2019; Bauer B., *et al*, 2016).

En México 25 % de los padecimientos atendidos por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) son de tipo doloroso he inflamatorio convirtiendo estos padecimientos en una problemática de salud pública en el país, lo que abre la puerta a la investigación de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estos padecimientos (Covarrubias, A., *et al*, 2010; Boyd A., *et al*, 2019).

En los últimos años, se ha generado un mayor interés en el uso de terapias alternativas y el uso terapéutico de productos naturales, debido a que las propiedades terapéuticas de las plantas han demostrado un gran valor como fuente de moléculas con potencial terapéutico (Thomford N., *et al*, 2018; Atanasov, *et al*, 2015).

El dolor han sido un padecimiento que ha acompañado a la humanidad a lo largo de toda su historia, por ello desde que el ser humano es consiente ha centrado sus esfuerzos en tratar de entender que es lo que lo ocasiona, en la actual la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) ha tratado de definir que es el dolor, pero muchos investigadores y profesionales de la salud afirman que la definición actual de dolor según la (IASP) carecer precisión, ocasionado que en los últimos años surjan propuestas alternativas a la definición actual (Pérez J., *et al*, 2005; Rajaa, S., *et al*, 2020).

Por otro lado, la inflamación es causada por agentes agresores que da lugar a una respuesta inflamatoria a través de la transducción en señales eléctricas o químicas que ocurren desde que los tejidos son lesionados lo cual activa las células del sistema inmunitario las cuales comienzan a liberar de una gran variedad de sustancias que activan la denominada “Sopa” o “Cocktail” inflamatorio (García, P., 2008).

Esto nos lleva a conocer los fármacos que se utilizan para el tratamiento de la inflamación y el dolor los cuales son de tipo analgésico (esteroideos y no esteroideos) los más empleados en la actualidad son los medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINES) para el tratamiento de padecimientos dolorosos-inflamatorios y los fármacos de tipo los opioides que son mayormente utilizados para tratar el dolor, pero su uso por largos periodos de tiempo genera reacciones adversas en los consumidores (del Arco, J. 2015).

Al ver que los fármacos utilizados para el tratamiento del dolor y la inflamación cuentan con ciertas desventajas, se tiene la necesidad constante de investigar otras

alternativas terapéuticas como lo son la medicina tradicional ya que las plantas medicinales han demostrado un gran valor como fuente de moléculas con potencial terapéutico, y en la actualidad siguen representando un grupo importante para la identificación de nuevas moléculas de interés farmacéutico (Thomford N., *et al*, 2018).

De aquí la importancia del estudio de plantas las cuales cuenten con amplios conocimientos empíricos o conocimientos científicos sobre su potencial uso para el tratamiento de ciertos padecimientos, *Eupatorium petiolare* es conocida por múltiples nombres por la población mexicana, entre los más conocidos son pecho o amargocilla, esta planta es endémica de México y se encuentra ampliamente distribuida en el centro y sur del país, perteneciente al género *Ageratina*, plantas pertenecientes a este género son utilizadas en el tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, así como agentes antiinflamatorios y analgésicos de los cuales se han obtenido diferentes compuestos con actividades biológicas, *Eupatorium petiolare* es ampliamente utilizada en algunos estados para tratar la inflamación y el dolor pero no se cuenta con suficiente sustento científico que valide su potencial uso para el tratamiento de estos padecimientos (García, *et al*, 2011).

3 Marco teórico

3.1 La inflamación y el dolor en México como un problema de salud pública

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en colaboración con el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) afirman que el 5 % de los padecimientos atendidos por médicos de primer contacto son de tipo dolorosos y el 20 % son de tipo inflamatorios por definición, si consideramos que México en el ciclo 2020-2021 se entendió un total de 63.6 millones de consulta de Medicina Familiar, entonces es posible que poco más de 15.8 millones de pacientes sufran este tipo de padecimientos y a pesar de todos los avances en las terapias muchos pacientes continúan lidiando con síntomas continuos que no se alivian por completo ni con el ayuda de los mejores tratamientos que la medicina convencional tiene para ofrecerles de aquí la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estos padecimientos, abriendo la puerta a la investigación de productos naturales debido a las propiedades terapéuticas de las plantas las cuales han demostrado un gran valor como fuente de moléculas con potencial terapéutico (Covarrubias, A., *et al*, 2010; IMSS, 2021; INEGI, 2020; Boyd A., *et al*, 2019).

3.2 Dolor

3.2.1 Panorama histórico de la definición de dolor

El dolor han sido un padecimiento que ha acompañado a la humanidad a lo largo de toda su historia, por ello desde que el ser humano es consiente ha centrado sus esfuerzos en tratar de entender que es lo que lo ocasiona, por este motivo, la definición de dolor ha cambiado a lo largo del tiempo, para las civilizaciones primitivas, el dolor era causado por influencias mágicas y demonios; para los

antiguos egipcios, griegos e hindúes, el corazón era el centro de la sensación dolorosa; y en la medicina china, el dolor es causado por un desbalance en la energía vital “Chi” (Pérez J., *et al*, 2005; García P., 2008). Alcmeón de Crotona (siglo VI a. C.), fue el primero en proponer vagamente este concepto al postular: que es el cerebro, y no el corazón, el centro de las sensaciones y la razón, sin embargo, su idea no prospero. Hipócrates (siglo IV a. C.), propuso que el cerebro era una glándula y que el dolor provenía del exceso o déficit de los humores vitales. Straton (Siglo II a.C.) propuso que el cerebro era el centro de todas las sensaciones, incluido el dolor. Herófilo y Erasistrato de Alejandría (siglo II a.C.); promovieron que el cerebro era parte del sistema nervioso y que los nervios unidos al neuroeje eran de dos tipos, los relacionados con el movimiento y con las sensaciones. Celso (siglo I d.C.) incluye al dolor en el fenómeno de la inflamación, pero estas definiciones de dolor no eran compartidas por todos los científicos contemporáneos y no fue hasta el (siglo II d.C.) cuando Galeno de Alejandría rescatar nuevamente las definiciones y los incorpora en una teoría sobre el funcionamiento del sistema nervioso. Avicena (siglo X d.C.) describe que las sensaciones “internas” se encontraban localizadas en los ventrículos cerebrales y que el dolor es una sensación independiente a la temperatura o el tacto. Alberto Magno y Mondino de’Lucci (siglo XII-XIII d.C.), promueven al cerebro como sitio generador de la sensación dolorosa. René Descartes (siglo XV-XVI d.C.) consolida la idea del cerebro como centro del dolor y describe en forma extensa la fisiología sensorial. Durante el siglo XVIII, diversos científicos realizaron progresos significativos en la anatomía y fisiología del sistema nervioso, pero no fue hasta el siglo XIX, cuando se empezó a fundamentar las definiciones del dolor a través de conocimientos científicos del mismo (Gutiérrez G. & Cadena L., 2001).

3.2.2 Panorama actual de la definición de dolor

La actual Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define en 1979 al dolor como:

“Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño”

Siendo la definición más aceptada por los investigadores en el campo del dolor y los profesionales de la salud y adoptado por varias organizaciones profesionales, gubernamentales y no gubernamentales, incluida la Organización Mundial de la Salud. Pero en años recientes muchos campos de la ciencia a través de avances científicos han demostrado que la comprensión del dolor justifica una nueva reevaluación de la definición y han propuesto modificaciones, por lo que en 2020 la definición de dolor cambia a:

“Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial”

El cual difiere con la definición anterior por las siguientes razones:

La definición de 1979 ignora la multiplicidad de interacciones mente-cuerpo y descuida “las dimensiones éticas del dolor” y no aborda adecuadamente el dolor en poblaciones como neonatos y ancianos.

Mientras que la definición del 2020 enfatiza el autoinforme verbal a expensas del no verbal los cuales son comportamientos que pueden proporcionar información vital, especialmente en no humanos (animales) y humanos con deficiencias cognitivas o habilidades del lenguaje, basando la nueva definición bajo los siguientes puntos:

- El dolor es siempre una experiencia personal que está influenciada en diversos grados por factores biológicos, psicológicos y sociales.
- El dolor y la nocicepción son fenómenos diferentes. El dolor no puede inferirse únicamente de la actividad en las neuronas sensoriales
- A través de sus experiencias de vida. Los individuos aprenden el concepto de dolor.
- Debe respetarse el relato de una persona sobre una experiencia como dolor.
- Aunque el dolor por lo general cumple una función adaptativa, puede tener efectos adversos sobre la función y el bienestar social y psicológico.
- La descripción verbal es solo uno de varios comportamientos para expresar dolor; la incapacidad de comunicarse no niega la posibilidad de que un humano o un animal no humano experimente dolor.

Muchos científicos afirman que la definición actual de dolor según la IASP es demasiado redundante, ya que reiterar conceptos que ya son presentes en la definición anterior convirtiendo la definición actual en algo obsoleto debido a que afirmaciones como “dolor en la ausencia de daño tisular o cualquier fisiopatología probable causa” suele tener “razones psicológicas”, lo cual convierte a la definición actual en una definición que carecer precisión, ocasionado que en los últimos años surjan propuestas alternativas a la definición actual, un ejemplo de esto es: Williams y Craig que definieron el dolor como “una angustia experiencia asociada con daño tisular real o potencial con componentes sensoriales, emocionales, cognitivos y sociales” y Cohen que define al dolor la siguiente manera: “El dolor es un experiencia somática reconocible que refleja la aprensión de una persona de amenaza a su integridad corporal o existencial”, lo cual convierte a la definición de dolor en algo no estandarizado hasta la actualidad, pero todas las nuevas definiciones y modificaciones a la definición de IASP se basan en los puntos establecidos para la formación de la nueva definición los cuales fueron establecidos por la misma institución (Rajaa, S., *et al*, 2020; Fuentes, J. 2020).

3.2.3 Clasificación de dolor

Desde una perspectiva neurobiológica el dolor es en realidad tres cosas muy diferentes:

- El primer tipo de dolor es un sistema protector fisiológico de alerta temprana (dolor nociceptivo), el cual es esencial para detectar y minimizar el contacto con estímulos dañinos o nocivos. Siendo el dolor que sentimos al tocar algo

demasiado caliente, frío o afilado. Debido a que este dolor está relacionado con la detección de estímulos nocivos, se llamado dolor-nociceptivo, lo que convierte a este tipo de estímulos en un dolor de alto umbral que solo se activa ante la presencia de estímulos intensos, convirtiendo al aparato neurobiológico encargado de generar el dolor nociceptivo en sistemas nerviosos capaz de señalar daño tisular inminente o real por estímulos ambientales, dándole un papel protector al individuo exigiendo una atención y acción inmediatas, lo que genera una activación del reflejo de retirada, provocando el desagrado intrínseco de la sensación provocada y la angustia emocional, es decir, el dolor nociceptivo se presenta como algo que se debe evitar ahora y, cuando se activa, ocasionado que el sistema anule la mayoría de las demás funciones neuronales.

- El segundo tipo de dolor también es adaptativo y protector (dolor inflamatorio), ya que ayuda aumentar la sensibilidad sensorial después de un daño tisular inevitable, ocasionado un dolor que ayuda en la curación de la parte del cuerpo lesionada al crear una situación de hipersensibilidad al dolor que evita el contacto físico y el movimiento reduciendo aún más el riesgo de daño y promoviendo la recuperación, un ejemplo de esto es son las herida quirúrgica o en una articulación inflamada, donde los estímulos normalmente inocuos ahora provocan dolor, y este dolor es causado por la activación del sistema inmunitario por lesión o infección del tejido, y por lo tanto se le llama dolor-inflamatorio, lo cual convierte al dolor en una de las características principales de la inflamación y aunque este dolor es algo adaptativo puede generar cuadros clínicos de inflamación que puede afectar al individuo.
- El tercer tipo de dolor es aquel que no es protector (dolor crónico), sino desadaptativo, siendo el resultado del funcionamiento anormal del sistema nervioso convirtiéndolo en un dolor patológico el cual no necesariamente es síntoma algún trastorno sino un estado de enfermedad del sistema nervioso puede ocurrir después de dolor neuropático, pero también en condiciones dolor disfuncional

El efecto ocasionado de alguno de los tres tipos de dolor es lo que generalmente englobamos en un solo concepto que llamamos “dolor”, sin embargo, debido a que los procesos que impulsan a cada uno son bastante diferentes, los tratamientos deben dirigirse a los distintos mecanismos responsables (Woolf, C. 2010).

Entonces el dolor puede clasificarse según diferentes criterios en función del mecanismo fisiopatológico (nociceptivo o neuropático), la duración (dolor agudo, crónico, episódico o al final de la dosis), la etiología (maligna o no maligna) o la posición anatómica (Souza Monteiro de Araujo, *et al*, 2020).

3.3 Inflamación

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por

cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica (García, P. 2008). Aunque dolorosa, la inflamación es normalmente una respuesta reparador, sin embargo, en ocasiones transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa, y esta relación es basada en las observaciones de un incremento de células y metabolitos involucrados en la respuesta inflamatoria en diversas enfermedades, por lo que la inflamación juega un papel importante en la patogénesis de las enfermedades crónico-degenerativas, aunque suele acompañarse de una respuesta generalizada la cual puede ser una “respuesta de fase aguda” que se caracteriza por un cuadro clínico pasajero de sensación de malestar, fiebre y modificación del perfil de las proteínas y leucocitos circulantes, que en ocasiones, provoca una reacción orgánica generalizada “síndrome de respuesta inflamatoria sistémica” que trae por consecuencia una liberación descontrolada de mediadores, que pueden causar daño hístico y una secuencia de reacciones a modo de espiral sin control, lo que provoca “inflamación maligna”, produciendo el fracaso funcional de los diferentes órganos y sistemas provocando la muerte del individuo, en este sentido, si conocemos los mecanismos moleculares que vinculan la inflamación con el dolor, se pueden desarrollar o aislar nuevas moléculas para el tratamiento de la inflamación y el dolor (Ronchetti, S., Migliorati, G., & Delfino, D., 2017; García, P. 2008).

3.3.1 Fases de la inflamación

La respuesta inflamatoria se lleva a través de cinco fases diferentes:

- La primera de ellas es la liberación de mediadores las cuales son moléculas, que son liberadas o sintetizadas por leucocitos polimorfonucleares (PMN) especialmente los neutrófilos los cuales actúan en las primeras fases de la inflamación (6-24 h), luego acuden los macrófagos y finalmente los linfocitos, por medio de la actuación de determinados estímulos, sin embargo, aunque en este proceso se liberan una gran cantidad de mediadores diferentes, las prostaglandinas, los leucotrienos y el óxido nítrico han sido considerados como las moléculas más activas durante este proceso
- La segunda fase tiene que ver con el efecto de los mediadores, que una vez liberadas van a producir básicamente dos efectos, en una primera fase también conocida como “llegada de moléculas” que involucra Inmunoglobulinas que se unen y bloquean a los gérmenes y sus toxinas, la IgM e IgG activan el complemento por la vía clásica y la IgG, a su vez, se une a los receptores por la porción Fc (FcR) que presentan los fagocitos en su membrana potenciando la fagocitosis, factores del complemento los cuales pueden ser activados por la vía clásica o alterna por productos liberados directamente por el germen, cuando el complemento siguiendo una u otra vía, alcanza la vía común produce la lisis del germen o la célula extraña inductora de la inflamación los factores C3a y C5a, actuando sobre receptores de membrana, activan al mastocito y basófilo induciendo la liberación de mediadores y amplificando, de esta forma, el fenómeno inflamatorio, el C5a es un potente factor quimiotáctico,

mientras que el C3b, uniéndose a receptores de membrana de los fagocitos, potencia la fagocitosis, Kininógenos son moléculas en las cuales actúan las kininogenasas liberadas por el mastocito y basófilo dando lugar a las kininas y proteínas de la fase aguda y factores de la coagulación lo que provoca alteraciones vasculares que facilitan el movimiento de moléculas desde la sangre al foco inflamatorio, lo que genera la producción de edema y en una segunda fase más tardía también conocida como “llegada de células”, en donde las propias alteraciones vasculares, así como la liberación de factores quimiotácticos favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio, las células involucradas son: Basófilo que contribuye junto con el mastocito la liberación de mediadores, Neutrófilo que eliminan gérmenes mediante fagocitosis o liberando factores tóxicos, Monocito y Macrófago que presenta funciones similares a los neutrófilo, pero también actúan como célula presentadora del antígeno a las células específicas T y B, iniciando de esta forma respuestas específicas, también sintetizan la interleucina 1 (IL-1) que determina la aparición de fiebre, probablemente induciendo la síntesis de prostaglandinas que actúan sobre el centro termorregulador, también activa la proliferación de fibroblastos y producción de colágeno, fenómenos incluidos en la fase de reparación de la inflamación, Linfocitos B que sintetizan IgE que unidas al mastocito o basófilo pueden potenciar la inflamación, los linfocitos T comienzan a producir linfoquinas que prolongan la inflamación en una respuesta inmune más elaborada y los Eosinófilo que actúan en la función reguladora de la inflamación

- La tercera fase está relacionada con la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio lo que genera el denominado “Cocktail” inflamatorio, el cual desencadena una cascada de liberación de sustancias inflamatorias sensibilizantes o excitadoras de los nociceptores, las prostaglandinas, los leucotrienos y la Sustancia P son sensibilizadores mientras que los iones K⁺, la serotonina, la bradiquinina y la histamina, por su parte, son activadores
- La cuarta fase tiene que ver con la regulación del proceso inflamatorio el cual está estrechamente regulado por mecanismos inhibidores que finalizan o equilibran el proceso evitando así una respuesta exagerada o perjudicial
- La quinta fase está relacionada con la reparación, estos procesos integran la llegada a la zona de fibroblastos que van a proliferar y sintetizar colágeno, proliferación de células epiteliales y proliferación de vasos dentro de la herida lo que va a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados (García, L., Martínez, M. & González, H. 2001; Cervantes, R., Cervantes, A., & Presno J. 2014; García, P., 2008; González, R., et al,1994; Ruibal, A., Fernández, L., & González, M.,2004)

3.4 Fármacos utilizados para el tratamiento de la inflamación y dolor

Una de las soluciones ideales para aliviar los síntomas del dolor y la inflamación sería eliminar la causa que lo produce, pero con frecuencia esto no es posible o no puede hacerse con la suficiente rapidez y se recurren a tratamiento sintomático.

Para ello se utilizan fundamentalmente los antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos (AINES), ya que estos fármacos tienen ciertas propiedades analgésicas también son utilizados en estadios de dolor (del Arco, J. 2015).

Por otro lado, los analgésicos del tipo opioides son utilizados en el tratamiento del dolor de tipo crónico, estos medicamentos son similares a las sustancias naturales (llamadas endorfinas) producidas por el cuerpo para controlar el dolor las cuales se unen a unos receptores opioides en el sistema nervioso; dichos receptores se clasifican en tres tipos: μ , θ y κ , y se encuentran distribuidos por diferentes zonas del organismo como lo son: las células nerviosas del cerebro, la médula espinal y otras partes del cuerpo. Cuando un opioide se une a este receptor, bloquea las señales de dolor que el cuerpo le envía al cerebro, pero sus posibles problemas de adicción en los pacientes dificultan su uso clínicos, provocando que uso se limite a tratamientos oncológicos (Gómez, A. 2011; Calvo, R. & Torres, L., 2017).

Los antiinflamatorios esteroideos son corticoides naturales (hormonas producidas por la corteza adrenal) o semisintéticos de características estructurales y farmacológicas similares a los primeros, aunque en general, son más eficaces. Su uso generalizado se ve limitado por sus importantes efectos secundarios y sus efectos sobre el metabolismo del organismo (Dinarello C. 2010). Podemos dividir las hormonas suprarrenales en tres grupos: Mineralocorticoides, Glucocorticoides y Andrógenos, de éstas sólo los glucocorticoides son los activos como antiinflamatorios, los glucocorticoides son fármacos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores derivados del cortisol o hidrocortisona, hormona producida por la corteza adrenal esencial para la adaptación al estrés físico o emocional, el principal efecto de los corticoides proviene de su actividad antiinflamatoria, que logran por mecanismos diversos, ya sea promoviendo la transcripción o la no transcripción de determinados genes (vía genómica), o por otros mecanismos (vía no genómica). En general, se atribuyen los efectos antiinflamatorios a la inhibición de la transcripción de genes, y la expresión de mediadores, receptores, moléculas de adhesión y de citocinas, y los efectos secundarios a la activación de la transcripción. Los corticoides sintéticos, es decir los medicamentos, tienen las mismas acciones que los glucocorticoides naturales que se encuentran en el organismo. Se han convertido en fármacos importantes para el tratamiento de muchos padecimientos inflamatorios y alérgicos, entre los que se encuentran muchas enfermedades reumáticas, los más representativos son: Dexametasona, prednisona, cortisona, hidrocortisona, aunque son medicamentos muy útiles, tienen ciertos de efectos secundarios como lo son: Retención de líquidos, presión arterial alta, problemas con los cambios de humor, la memoria, el comportamiento y otros efectos psicológicos, como confusión o delirio y malestar estomacal, estos efectos secundarios son recurrentes al utilizar estos medicamentos a dosis altas y durante periodos de tiempo prolongados (Serra, H., Roganovich, J. & Rizzo L., 2012; Vane, J. & Botting, R., 1996).

Los antiinflamatorios no esteroideos o también conocidos como AINES son un grupo químicamente heterogéneo de fármacos que además de sus propiedades antiinflamatorias actúan también como analgésicos y antipiréticos, por este motivo constituyen la primera línea en el tratamiento farmacológico del dolor y son el grupo de fármacos de mayor consumo empleándose tanto solos como combinados con otros analgésicos. El primer antiinflamatorio comercializado fue la *Aspirina*, a finales del siglo XIX. Este principio activo se obtuvo tras convertir el ácido salicílico obtenido de los extracto de la corteza del sauce blanco en ácido acetilsalicílico, y a partir de mediados de los años cincuenta del siglo XX cuando comenzaron a surgir el resto de AINE, tradicionalmente este grupo de fármacos se clasificaban en función de sus características químicas, en las que la mayoría de los AINE populares se clasifican como derivados principales del ácido salicílico, ácido acético, ácido enólico, ácido antranílico o ácido propiónico. Sin embargo, con el avance del conocimiento científico, la clasificación también se ha modificado en función de su selectividad para inhibir las enzimas ciclooxigenasa/prostaglandina-endoperóxido sintasa (PGHS), que son los principales objetivos de estos fármacos. Además, también se ha formulado un sistema de clasificación de los AINE en función de su vida media. Sin embargo, a pesar de la diversidad, sus funciones son relativamente similares. Los AINE se utilizan principalmente para el tratamiento de pacientes que padecen dolor y afecciones inflamatorias, ya que actúan aliviando el dolor por su acción analgésica, reducen la inflamación por su acción antiinflamatoria y disminuyen la fiebre por su acción antipirética, en comparación de los antiinflamatorios esteroideos los efectos secundarios más comunes de los AINE son de tipo gastrointestinal como puede ser malestar estomacal, acidez estomacal y náuseas, esto se debe a que el principal mecanismo de acción de los AINE es la inhibición competitiva y reversible de la enzima ciclooxigenasa (COX), encargada de la síntesis de prostaglandinas (Pgs) las cuales intervienen de manera específica en los procesos inflamatorios como mediadores biológicos, a la vez que ejercen, entre otras, actividades biológicas en la zona gastrointestinal que van a permitir la citoprotección. Esta inhibición competitiva y reversible de la enzima ciclooxigenasa (COX), encargada de la síntesis de Pgs que cataboliza el paso del ácido araquidónico de las membranas celulares a endoperóxidos cíclicos (Pgs y tromboxanos), de esta manera, los AINE no sólo inhiben la acción proinflamatoria de las Pgs (efecto farmacológico buscado), sino que alteran de forma importante la citoprotección gastrointestinal mediada por las Pgs y dan lugar a la aparición de reacciones adversas en el tubo digestivo (Sebastián, J. 2002; Dinarello C. 2010; Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. 2020).

3.4.1 Indometacina

La indometacina es un potente fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), se utiliza como agente antipirético, antiinflamatorio y analgésico para tratar diversas afecciones. La indometacina se descubrió por primera vez en 1963 y fue aprobada por primera vez para su uso en los EE. UU. por la Administración de Drogas y Alimentos en 1965, desde entonces la indometacina se ha estudiado ampliamente

en ensayos clínicos como uno de los AINE más potentes para bloquear la síntesis de prostaglandinas y fue uno de los primeros AINE que se usó en el tratamiento sintomático de la migraña y para los dolores de cabeza (Lucas S. 2016; Munjal, A., & Allam, A. 2021; Tepper S. 2016).

3.4.1.1 Farmacodinámica

La indometacina inhibe la producción de ciclooxigenasa y tromboxanos lo que bloquea la cascada del ácido araquidónico disminuyendo así la formación de prostaglandinas las cuales desencadenan la formación de ácido araquidónico y prostaglandina *F2 alfa* que son las causantes de la contracción del músculo liso debido a que sensibiliza a los receptores alógenos, lo cual favorece de esta manera su actividad antipirética, antiinflamatoria y analgésica (Subsecretaria de prestaciones de servicios médicos e insumos: dirección de medicamentos, tecnologías e insumos, 2018)

3.4.1.2 Mecanismo de acción

La indometacina es un inhibidor inespecífico y reversible de la enzima ciclooxigenasa (COX) o prostaglandina G/H sintasa. Hay dos isoformas identificadas de COX: la COX-1 está universalmente presente en la mayoría de los tejidos corporales y participa en la síntesis de prostaglandinas y tromboxano A₂, mientras que la COX-2 se expresa en respuesta a una lesión o inflamación. Expresada constitutivamente, la enzima COX-1 participa en la protección de la mucosa gástrica, la función plaquetaria y renal al catalizar la conversión de ácido araquidónico en prostaglandina (PG) G₂ y PGG₂ en PGH₂. COX-2 se expresa constitutivamente y es altamente inducible por estímulos inflamatorios. Se encuentra en el sistema nervioso central, los riñones, el útero y otros órganos. COX-2 también cataliza la conversión de ácido araquidónico a PGG₂ y PGG₂ a PGH₂. En la vía mediada por COX-2, la PGH₂ se convierte además en PGE₂ y PGI₂ (también conocida como prostaciclina). PGE₂ participa en la mediación de la inflamación, el dolor y la fiebre. La disminución de los niveles de PGE₂ conduce a reacciones inflamatorias reducidas. Sin embargo, se sabe que la indometacina inhibe ambas isoformas de la COX, con una mayor selectividad por la COX-1, lo que explica sus mayores efectos gástricos adversos en relación con otros AINE. Se une al sitio activo de la enzima y previene la interacción entre la enzima y su sustrato, el ácido araquidónico. La indometacina, a diferencia de otros AINE, también inhibe la fosfolipasa A₂, la enzima responsable de liberar ácido araquidónico de los fosfolípidos. Los efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios de la indometacina, así como las reacciones adversas asociadas con el fármaco, se producen como resultado de la disminución de la síntesis de prostaglandinas. Sus efectos antipiréticos pueden deberse a la acción sobre el hipotálamo, lo que da como resultado un aumento del flujo sanguíneo periférico, vasodilatación y posterior disipación de calor (Summ, O., & Evers, S. 2013; Lucas S. 2016; DrugBank Online [Actualizado 26 febrero 2022; Recuperado 27 de febrero de 2022]).

3.4.2 Diclofenaco

El diclofenaco es un derivado del ácido fenilacético y pertenece a la clase de (AINE) del ácido acético que incluye indometacina, etodolaco, ketorolaco, nabumetona, tolmetina y sulindaco, tiene actividades tanto analgésicas como antipiréticas y antiinflamatorias (especialmente aquellas que involucran el sistema musculoesquelético). El diclofenaco se aprobó por primera vez en los Estados Unidos en 1988 y hoy en día se encuentra disponible en múltiples formulaciones genéricas y de marca, ya sea solo o en combinación con otros analgésicos o agentes protectores de la mucosa gastrointestinal, lo cual lo convierte en uno de los AINE más utilizados en todo el mundo (Diclofenac 2017; Alfaro, R., & Davis, D. 2021).

3.4.2.1 Farmacodinámica

El diclofenaco tiene actividad como analgésico, antipirético y antiinflamatorio. Su potencia contra la COX-2 es sustancialmente mayor que el de la indometacina, naproxeno, o varios otros AINE. El mecanismo de acción del diclofenaco es por inhibición en la síntesis de prostaglandinas, dando como resultado la disminución de los productos de la lipooxigenasa (los LT) por incremento en la captación de ácido araquidónico hacia los triglicéridos. El atributo más importante del diclofenaco es la diferencia con otros antiinflamatorios es su prolongada absorción al líquido sinovial, con concentraciones que persisten por encima de los niveles plasmáticos durante 24 horas. Además, el diclofenaco parece reducir las concentraciones intracelulares de AA libres en los leucocitos, por la alteración de su liberación o absorción. La selectividad de diclofenaco para la COX-2 es similar a la de celecoxib (Subsecretaria de prestaciones de servicios médicos e insumos: dirección de medicamentos, tecnologías e insumos, 2018).

3.4.2.2 Mecanismo de acción

El diclofenaco inhibe la ciclooxigenasa-1 y -2, las enzimas responsables de la producción de prostaglandina (PG) G₂, estas moléculas tienen una amplia actividad en el dolor y la inflamación y la inhibición de su producción es el mecanismo común que vincula cada efecto del diclofenaco, el cual ejerce su acción al inhibir la actividad de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) al inhibir la síntesis de prostanoides como la prostaglandina-E₂ (PGE₂), que es el precursor de otras PG como: prostaciclina y los tromboxanos, que son componentes esenciales de la respuesta inflamatoria y dolorosa, siendo la inhibición de su producción el mecanismo común que vincula cada efecto del diclofenaco. El diclofenaco inhibe la COX-1 y la COX-2 relativamente por igual, aunque la evidencia sugiere que tiene una inhibición selectiva de la COX-2, aproximadamente cuatro veces mayor que la inhibición de la COX-1 durante la experimentación in vitro. Este valor está lejos de la selectividad de 20 veces informada de la inhibición de COX-2 de los inhibidores de COX-2 más selectivos como rofecoxib, El diclofenaco y otros AINE también tienen efectos en el bloqueo de la producción de tromboxanos, especialmente tromboxano-B₂ (TXB₂). El diclofenaco se considera uno de los inhibidores más

efectivos de la producción de PGE₂; es la principal PG implicada en la modulación de la nocicepción. COX-1 es una enzima constitutivamente activa que se expresa casi de forma ubicua en el cuerpo humano. Se cree que el nivel y la actividad de COX-1 son bastante estables y participan en el mantenimiento de la actividad normal de las plaquetas, el flujo sanguíneo en los tejidos renales y la protección de la mucosa gástrica de la acidez dañina, entre otros procesos. COX-2 es una enzima inducible que se expresa en exceso durante los momentos de daño tisular y en presencia de mediadores inflamatorios que también tienen propiedades nociceptivas e inducen dolor. Estos incluyen tromboxanos, leucotrienos y prostaglandinas. El efecto de inhibición de la COX-2 del diclofenaco parece ocurrir principalmente en el sitio de los tejidos objetivo, como el líquido sinovial y las cápsulas articulares. Sin embargo, la inhibición de las enzimas COX en otros tejidos, como el estómago, puede causar el agotamiento de muchas sustancias protectoras y puede conducir al desarrollo de irritación gástrica. Los efectos analgésicos periféricos del diclofenaco son atribuibles a su actividad en la disminución de la disponibilidad de receptores de dolor periféricos sensibilizados a través de la regulación a la baja, lo que parece lograrse mediante la estimulación de la vía cGMP del óxido nítrico de L-arginina a través de la activación de los canales de potasio sensibles a ATP. Además, la evidencia sugiere que el diclofenaco también tiene actividad para reducir los niveles previamente aumentados de sustancia P, un conocido neuropéptido proinflamatorio con actividad nociceptiva en el líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide (Alfaro, R., & Davis, D. 2021; DrugBank Online [Actualizado 26 febrero 2022; Recuperado 27 de febrero de 2022])

3.5 Productos naturales

En los últimos años se ha generado un mayor interés en el uso de terapias alternativas y el uso terapéutico de productos naturales, debido a que las propiedades terapéuticas de las plantas han sido reconocidas desde la antigüedad para el tratamiento de múltiples condiciones patológicas, las cuales han sido utilizadas como brebajes o extractos de plantas concentrados cumpliendo el papel de medicamentos derivados de plantas, ya que las plantas medicinales han demostrado un gran valor como fuente de moléculas con potente actividad biológica, y en la actualidad siguen representando un grupo importante para la identificación de nuevas moléculas de interés farmacéutico (Thomford N., *et al*, 2018; Atanasov, *et al*, 2015).

A medida que el espectro de enfermedades sigue cambiando y el ritmo de vida sigue siendo más rápido, la probabilidad y la frecuencia de enfermedades causadas por reacciones inflamatorias humanas también siguen aumentando, por tales motivos, desarrollar medicamentos antiinflamatorios efectivos se ha convertido en el punto importante de las investigaciones actuales, la modulación de la inflamación y el dolor con el uso de plantas medicinales propone una alternativa a las estrategias terapéuticas convencionales para numerosas dolencias, particularmente cuando se

espera la supresión de la inflamación y el tratamiento del dolor (Tasneem, S. 2019; Li, S. 2020; Winand, L., Sester, A., & Nett, M. 2021).

3.5.1 Género Ageratina (*Eupatorium*)

En el género Ageratina (*Eupatorium*) se incluyen aproximadamente 1,200 especies distribuidas principalmente en las regiones tropicales de América, Europa, Asia y África, aproximadamente 250 especies se concentran en México, América Central y en la Cordillera de los Andes, además de algunas endémicas de los Estados Unidos, Canadá, el Caribe y sur del Brasil. Algunas especies del género Ageratina son utilizadas en el tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, así como agentes antiinflamatorios y analgésicos. De allí que se han obtenido diferentes compuestos con actividades biológicas que podrían ser estructuras líderes en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Entre los constituyentes principales de este género, se encuentran: los terpenoides, flavonoides y alcaloides pirrolizidínicos (Bustos C. 2016).

3.5.2 *Eupatorium petiolare*

Eupatorium petiolare pertenece al género Ageratina (*Eupatorieae*) conocida con el nombre común entre la población de: pechto, amargocilla, coyesa, colochichi, cunisha, hierba amargosa, hierba del burro, hierba del perro, hierba del ángel y Yolochíchitl, es una planta endémica de México, ampliamente distribuida en el centro y sur del país, arbustiva de hasta 2 m de altura, cilíndrica, con tallos leñosos blanco-amarillentos, hojas opuestas con capítulos laminares ovados dispuestos en corimbos, y flores blancas, la cual ha sido empleada por los pueblos indígenas para el tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, así como agente antiinflamatorio y analgésico, entre otros usos empíricos reportados por la población, un ejemplo de esto ocurre en algunas comunidades del Estado de México en la cual es utilizada para el tratamiento de la diabetes y en el estado de Michoacán se utiliza para tratar ciertos trastornos estomacales, dolores musculares, dolores de cabeza, como anticoagulante, astringente, antihistamínico, antirreumático e inmunoestimulante (Bustos C. 2016; Andrade, A. 2016; García, *et al*, 2011). Los estudios fitoquímicos de *E. petiolare* muestran la presencia de monoterpenos, sesquiterpenos (guaianes, germacrenes y cadinanes), diterpenos, triterpenos, flavonoides y alcaloides del tipo pirrolizidina (Calderón, *et al*, 1983; Bustos C. 2016; García, *et al*, 2011).

3.6 Estudios experimentales actividad antiinflamatoria y antinociceptiva

La investigación básica y clínica de fármacos con uso clínico, así como compuestos experimentales ha avanzado mucho en los últimos años en su intento de conocer a fondo los mecanismos íntimos de la inflamación y la nocicepción y esto ha sido posible gracias a los modelos animales de inflamación y dolor (nociceptivo e inflamatorio) esto se debe a que dependiendo del modelo experimental, los resultados se pueden extrapolar al posible comportamiento humano, los modelos van dirigidos a ciertos padecimientos según del estímulo utilizado o duración del proceso inducido, existen diversidad de experimentos murinos, pero los más

utilizados para el estudio de la inflamación y dolor son los que utilizan estímulos con agentes químicos, mecánicos o térmicos (Ortega, A., Roca, A. & Micó J. 2002).

4 Objetivos

4.1 Objetivo General:

- Evaluar la actividad antiinflamatoria y actividad antinociceptiva de los extractos hidroalcohólico y acetónico de *Eupatorium petiolare*

4.2 Objetivos Específicos:

- Preparar extractos hidroalcohólico y acetónico de *Eupatorium petiolare*
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos mediante el modelo del edema auricular con aceite de croton y el modelo del edema plantar con carragenina en ratones CD1
- Evaluar la actividad antinociceptiva de los extractos obtenidos mediante el modelo de formalina al 1% en rata Wistar

5 Materiales y métodos

5.1 Obtención del extracto

En un matraz balón de 500 mL se colocaron 100 g de planta y 500 mL de disolvente (etanol 80% o acetona) dejándose en maceración durante un periodo de 15 días, posteriormente la mezcla se filtró y se recuperó los disolventes en un evaporador rotatorio a presión reducida para la obtención del extracto de acetona y para la obtención del extracto hidroalcohólico se realizó un proceso de maceración por un periodo de 15 días, el resultado se filtró y se recuperó los disolventes en un evaporador rotatorio a presión reducida y posteriormente se llevó a un proceso de liofilización.

5.2 Evaluación farmacológica de la actividad antiinflamatoria

5.2.1 Edema auricular inducido por aceite de croton de ratón CD1

Se emplearon ratones CD1 de un peso entre (20-25 g), (8-10) semanas de edad suministrados por la UPEAL de la UAM-X. Se utilizó una solución de aceite de croton al 5 % v/v, y con una micropipeta se aplicaron 10 μ L solución de aceite de croton disuelto en acetona en ambas caras de la oreja derecha de los 6 ratones de cada uno de los 6 grupos para inducir inflamación, 30 minutos después se administró vía tópica 10 μ L ambas caras de la oreja derecha de los ratones el tratamiento a evaluar 2 mg/oreja de indometacina y las sustancias a evaluar 1.77, 3.16, 5.62 mg/oreja de extracto, un grupo recibió el respectivo disolvente como vehículo; cuatro horas después de haber administrado el aceite de croton se sacrificaron los animales por dislocación cervical y se horadaron ambas orejas con un sacabocados de 3 mm de diámetro y se colocaran dentro de eppendorf previamente pesados . La inflamación de los grupos se determinó con la diferencia del peso entre la oreja con tratamiento y la oreja no tratada y se calcula el porcentaje de inflamación de los lotes que reciban tratamiento de acuerdo con lo descrito por Young y col., 1983; Regalado y col., 2015; Williamson y col., 1996.

5.2.2 Edema plantar inducido por carragenina en ratón CD1

Se emplearon ratones CD1 de un peso entre (20-25 g), (8-10) semanas de edad suministrados por la UPEAL de la UAM-X. Se administró vía oral 300 µL de los tratamientos a evaluar: indometacina (10 mg/kg), el extracto a evaluar (31.6, 100 y 316.2 mg/kg) y vehículo (solución salina más tween 2 %) a los 8 individuos de los 6 grupos y 30 min. después se administraron 30 µL de una solución de carragenina al 1 % como agente inductor de inflamación suspendida en solución salina en la aponeurosis plantar de la pata derecha trasera, y se realizó la evaluación del efecto a los 30, 60, 90, 120, 180, 240 y 300 minutos tras la aplicación del irritante, se realizaron 3 mediciones en la pata derecha, mediante la determinación del desplazamiento de volumen que producen las patas traseras de los animales en un pletismómetro digital. Se calculó la diferencia de desplazamientos entre la pata derecha irritada (tratada) con la izquierda (no tratada). Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del edema aplicando la fórmula (siendo V desplazamiento de volumen)

$$\% \text{ de inhibición} = 100 \frac{[(V_t - V_{nt}) \text{ grupo control} - (V_t - V_{nt}) \text{ tratamiento}]}{(V_t - V_{nt}) \text{ grupo control.}}$$

Se consideró como actividad antiinflamatoria moderada la inhibición del edema del 50 al 65 % y como buen efecto antiinflamatorio un valor mayor de 65 % de acuerdo con lo de descrito Velázquez y col., 2014; Williamson y col., 1996.

5.2.3 Prueba de formalina al 1 % en ratas Wistar

Se emplearon ratas Wistar de un peso entre (180-200 g), (8-10) semanas de edad suministrados por la UPEAL de la UAM-X. Se colocaron las ratas en una cámara de observación de plexiglás abierta durante 30 minutos para que se aclimaten a su entorno; y 10 minutos antes de administrar el agente inductor de dolor nociceptivo se administraron 50 µL de las sustancias a evaluar, diclofenaco (100 µg/pata), el extracto a evaluar (31.6, 100 y 316.2 µg/pata) y el vehículo (solución salina + DMSO 5%) por medio de una inyección subcutánea en el dorso de la pata posterior derecha, pasando este tiempo se administraron 50 µL de una solución de formaldehído al 1 % por medio de una inyección subcutánea en el dorso posterior de la pata trasera derecha y se regresó al animal a las cámaras para observar la conducta nociceptiva. La conducta nociceptiva se cuantificó como el número de sacudidas de la pata inyectada durante períodos de 1 minuto cada 5 minutos, hasta 60 minutos después de la inyección (las sacudidas de la pata se caracterizan como una retirada rápida y breve o como una flexión de la pata inyectada). La actividad antinociceptiva se considera como una disminución en el número de sacudidas, de acuerdo con lo de descrito Tjølsen A. y col., 1992; Ortiz M. & Castañeda G. 2008.

5.3 Análisis estadístico

Los resultados de la evaluación farmacológica de los extractos fueron expresados como la media aritmética de los valores ± el error estándar por medio del programa estadístico Prism - GraphPad

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los grupos, así como la prueba complementaria de Tukey para realizar comparaciones múltiples. Los resultados con una $p < 0.05$ se consideran estadísticamente significativos.

6 Resultados y discusión

6.1 Obtención de los extractos

De 100 g de material vegetal seco y molido de *Eupatorium petiolare* (hojas, flores, parte aéreas y raíces) se obtuvieron 12.5 g de extracto hidroalcohólico y 7.5 g de extracto acetónico con un rendimiento de 12.5 % y 7.5 % respectivamente.

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

Tratamiento Dosis (mg/oreja)	Dosis (mg/oreja)	Diferencia de edema (mg)	Inhibición del edema (%)
Aceite de croton 5 %	-	8.9±0.65	-
Indometacina	20	1.83±0.37	79.2±4.09
Extracto acetónico	56.2	2.8±0.48	63.4±6.04
	3.16	3.23±0.54	68.7±5.33
	1.77	4.26±1.2	52.41±7.42
Vehículo (acetona)	-	8.31±1.2	7.24±12.83

Tabla 1. Efecto del extracto acetónico y controles (aceite de croton, indometacina y vehículo) en el modelo del edema auricular inducido con aceite de croton

Como se muestra en la tabla 1, las orejas de los animales que recibieron únicamente el aceite de croton (control negativo) desarrollaron un edema de 8.9 ± 0.65 mg mientras que los animales que recibieron vehículo (acetona) desarrollaron un edema (8.31 ± 1.2 mg) muy similar al grupo control negativo, por lo cual se puede observar que la acetona no interfiere en la formación del edema dentro del modelo experimental, por otro lado, el grupo que recibió indometacina (2 mg/oreja) desarrollo un edema de 1.83 ± 0.37 mg con un porcentaje de inhibición del 79.2 ± 4.09 % observándose el efecto del fármaco de referencia para la inhibición del proceso inflamatorio causado por el aceite de croton dentro de este modelo experimental.

Los grupos que recibieron la administración tópica del extracto acetónico de *Eupatorium petiolare* a las dosis de 1.77, 3.16 y 5.62 mg/oreja con un porcentaje de inhibición del edema de 52.41 ± 7.42 , 68.7 ± 5.33 y 63.4 ± 6.04 % respectivamente; Tomando en cuenta estos resultados (figura 1) podemos decir que la administración tópica del extracto acetónico tiene actividad antiinflamatoria y no se observa que la actividad farmacológica sea dependiente de la dosis.

Edema auricular inducido por aceite de croton

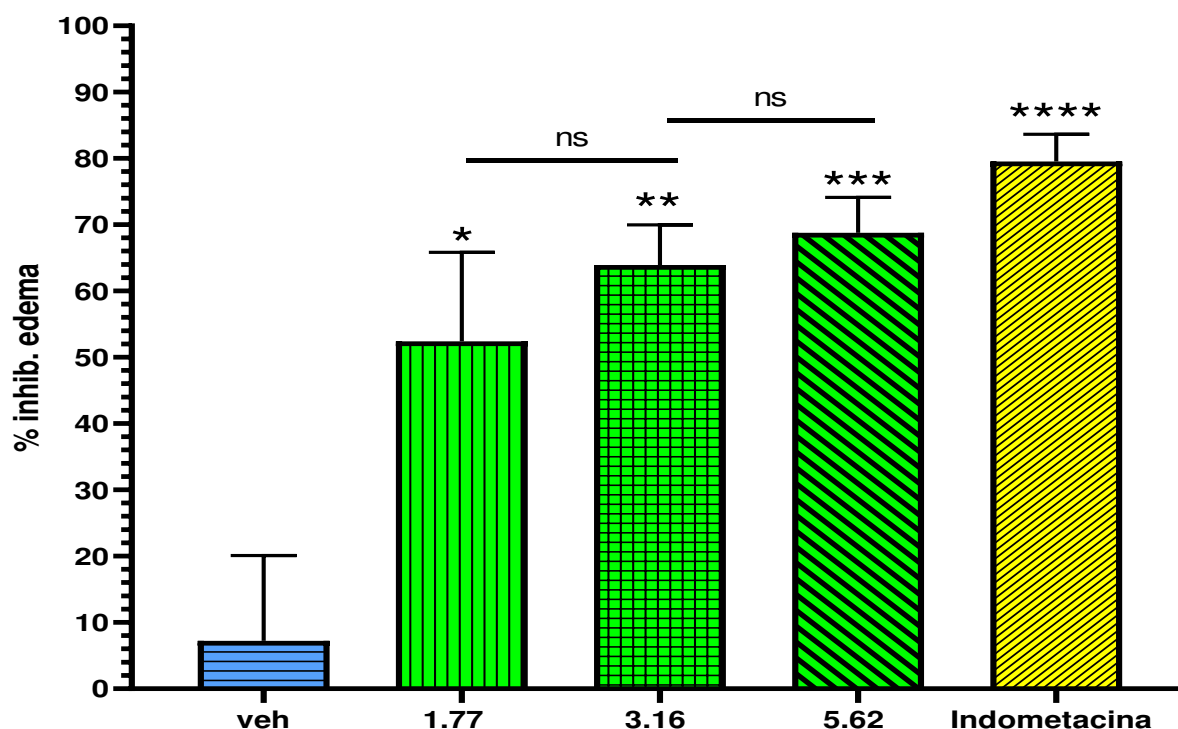


Figura 1. Porcentaje de inhibición en modelo del edema auricular inducido por aceite de croton del extracto acetónico de *Eupatorium petiolare*, indometacina y vehículo: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ con respecto al vehículo y n= no significativo; (n=6).

Tratamiento	Dosis (mg/oreja)	Diferencia de edema (mg)	Inhibición del edema (%)
Aceite de croton 5 %	-	10 ± 0.31	-
Indometacina	20	1.83 ± 0.36	81.78 ± 4.09
Extracto hidroalcohólico	56.2	4.98 ± 1.04	51.49 ± 10.28
	3.16	8.8 ± 1.22	12.58 ± 12.10
	1.77	6.43 ± 1.40	36.09 ± 13.98
Vehículo (etanol 80 %)	-	8.38 ± 0.691	7.10 ± 12.45

Tabla 2. Efecto del extracto hidroalcohólico y controles (aceite de croton, indometacina y vehículo) en el modelo del edema auricular inducido con aceite de croton

Por otro lado en la evaluación del extracto hidroalcohólico (Tabla 2), los resultados obtenidos con este modelo indican que las orejas de los animales que recibieron únicamente el aceite de croton (control negativo) desarrollaron edema de 10 ± 0.31 mg y mientras que los animales del grupo vehículo (etanol 80 %) desarrollaron un edema (8.38 ± 0.691 mg) muy similar al grupo control negativo, por lo cual se puede observar que el etanol 80 % no interfiere en el modelo experimental, por otro lado, el grupo que recibió indometacina 2 mg/oreja (control positivo) desarrollo un edema de 1.83 ± 0.36 mg con un porcentaje de inhibición del 81.78 ± 4.09 %, observándose

el efecto del fármaco de referencia para la inhibición del proceso inflamatorio causado por el aceite de croton dentro de este modelo experimental.

Los grupos que recibieron la administración tópica del extracto hidroalcohólico a las dosis de 1.77, 3.16 y 5.62 mg/oreja presentaron un porcentaje de inhibición del edema de 36.09 ± 13.98 , 12.58 ± 12.10 , 51.49 ± 10.28 % respectivamente: Tomando en cuenta estos resultados (figura 2) podemos decir que la administración tópica del extracto hidroalcohólico no tiene actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa, por lo tanto, este extracto se descarta para su implementación en los demás modelos presentados en este trabajo.

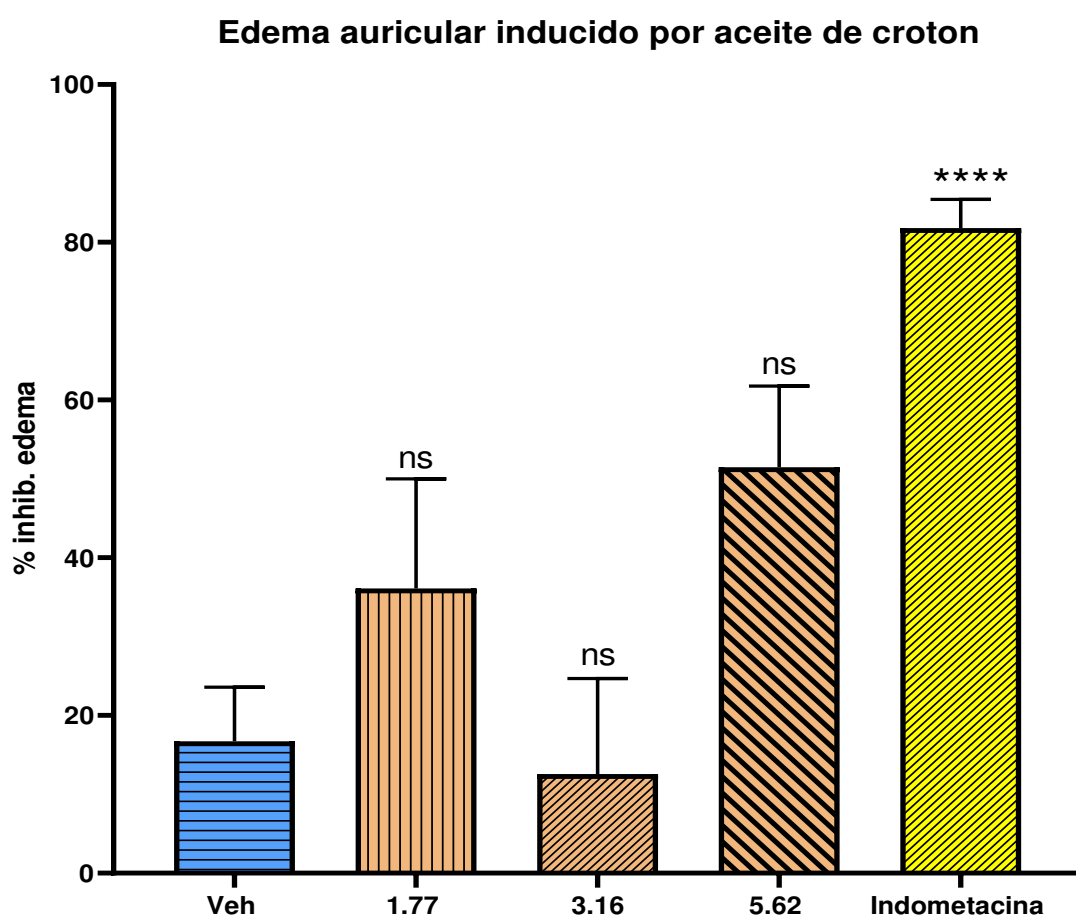


Figura 2. % de inhibición en modelo del edema auricular inducido por aceite de croton del extracto hidroalcohólico de *Eupatorium petiolare*, indometacina y vehículo: **** $p < 0.0001$ la comparación se realizó con respecto al vehículo y (ns) la comparación se realizó conforme a las dosis; (n=6).

De acuerdo a nuestros resultados, podemos decir que el extracto acetónico mostro actividad antiinflamatoria significativa en comparación al extracto hidroalcohólico el

cual no mostro actividad antiinflamatoria significativa, Ramirez y col., (2010) reporta que los compuestos aislados de *Eupatorium* spp incluye: monoterpenos, sesquiterpenos (guaianes, germacrenes y cadinanes), diterpenos, triterpenos, flavonoides y alcaloides del tipo pirrolizidina, por lo que las presencias de estos metabolitos en el extracto de acetona podrían ejercer la actividad antiinflamatoria.

El modelo de edema auricular inducido por aceite de croton es muy empleado para evaluar la actividad antiinflamatoria en extractos y fracciones de productos naturales vía tópica, debido a que es utilizado farmacológicamente para provocar inflamación de manera exógena la cual es ocasionada por la lesión de una gente químico (aceite de croton) debido a que provoca hinchazón e irritación en la piel, esto se debe a que sus agentes tóxicos están constituidos de glucósidos y resinas las cuales al ser utilizado de forma tópica ocasionan la liberación de mediadores de tipo eicosanoides y se induce la desgranulación de mastocitos, lo cual desencadena un incremento en el peso de la oreja del ratón y la infiltración de células inflamatorias, es por ello que los compuestos inhibidores de la biosíntesis o liberación de prostaglandinas y leucotrienos o los fármacos antagonistas de sus respectivos receptores, pueden atenuar el proceso inflamatorio inducido (Núñez, Y., *et al*, 2007).

El grupo de indometacina se utilizó como referencia debido a que la indometacina pertenece al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) actuando sobre la Inhibición competitiva y reversible de la enzima ciclooxigenasa, la cual al ser bloqueada se inhibe la cascada de ácido araquidónico encargada de la síntesis de prostaglandinas (Pgs) las cuales están relacionadas con los proceso inflamatorios, este fármaco es mayormente utilizado en este modelo ya que como se reporta en la literatura es el fármaco que presenta un mayor porcentaje de inhibición del edema con un valor promedio de $80\pm 5\%$ (Sebastián, J. 2002; del Arco, J. 2015).

Para medir la actividad antiinflamatoria del extracto acetónico vía oral se implementó el modelo experimental de edema plantar inducido por carragenina, esto debido a que la administración vía oral junto con la administración vía tópica es la forma más común en que la población utiliza esta planta.

6.3 Efecto antiinflamatorio (Edema plantar inducido por carragenina)

Como se muestra en la (Figura 3), después de la administración de carragenina al 1% en la aponeurosis plantar de los ratones con una previa administración de los tratamientos se mide el grado de inflamación de las patas a través de un transductor que registra las diferencias de nivel del fluido por medio de electrodos, con ayuda de esto se realizó un curso temporal en el que se observa el volumen del edema generado con respecto al tiempo para los grupos de carragenina 1%, vehículo (sol. salina + tween 2 %), indometacina (10 mg/kg) y las diferentes dosis del extracto acetónico *Eupatorium petiolare*.

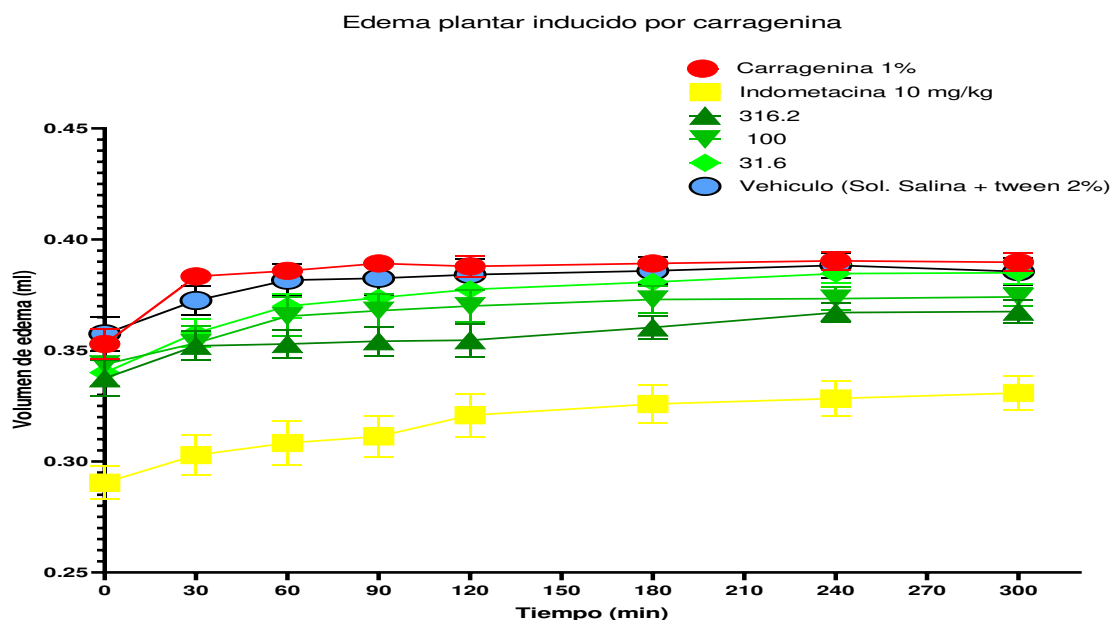


Figura 3. Curso temporal del edema plantar inducido por carragenina. Efecto del extracto acetónico de *E. petiolare*, indometacina, vehículo y carragenina.

Una vez que se obtuvo el curso temporal se procedió a obtener las áreas bajo la curva (ABC) para observar el efecto global de la evaluación farmacológica del extracto acetónico de *Eupatorium petiolare* y partiendo de estos valores se realizó el cálculo para obtener los porcentajes de inhibición del edema.

Tratamientos	Dosis (mg/kg)	ABC	Inhibición de edema (%)
Carragenina 1%	-	142.5±1.39	-
Indometacina	10	117.25±2.55	17.72±1.79
Extracto acetónico	316.2	138.21±1.35	3.01±1.02
	100	135.77±2.41	4.72±1.71
	31.6	135.4±1.45	4.93±0.95
Vehículo (Sol, Salina + tween)	-	141±2	0.99±1.4

Tabla 3. Efecto del extracto acetónico y controles (Carragenina, indometacina y vehículo) en el área bajo la curva (ABC) y %de inhibición en el modelo edema plantar inducido por carragenina

Como se muestra en la tabla 3, los resultados obtenidos con este modelo indican que las patas de los animales que recibieron únicamente carragenina (control negativo) desarrollaron una ABC de 142.5±1.39 y los animales del grupos vehículo (Sol, Salina + tween 2 %), desarrollaron un ABC (141±2) muy similar al grupo control negativo, por lo cual se puede observar que la Sol, Salina + tween 80 no interfiere en el modelo experimental, por otro lado, el grupo que recibió indometacina 10 mg/kg (control positivo) que desarrollo una Inhibición de edema del 17.72±1.79% a las 5 horas después de la aplicación de la carragenina,, observándose el efecto del fármaco de referencia para la inhibición del proceso inflamatorio causado por la carragenina dentro de este modelo experimental.

El extracto acetónico se administró vía oral a diferentes dosis (31.6, 100 y 316.2 mg/kg), mostrando una Inhibición de edema del 4.93 ± 0.95 , 4.72 ± 1.71 y $3.01 \pm 1.02\%$ respectivamente, observando así que no existe un efecto farmacológico del extracto debido a que en comparación de grupo de vehículo no existe diferencia estadísticamente significativa entre estos grupos (figura 4), con esto podemos decir que la extracción con el disolvente de acetona no tiene efecto antiinflamatorio al ser utilizado por administración vía oral, esto se puede deber a que después de ser metabolizado el extracto se inactivan los metabolitos responsables del efecto antiinflamatorio.

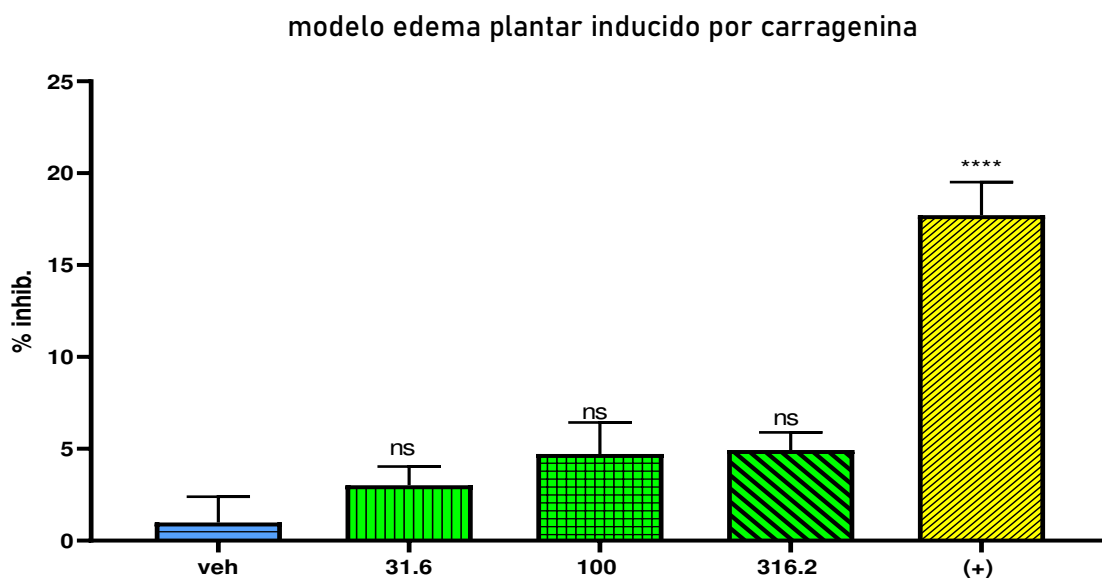


Figura 4. Porcentaje de inhibición de los controles (Indometacina y vehículo) del modelo edema plantar inducido por carragenina y el efecto del extracto acetónico de *E. petiolare* diferentes dosis (mg/kg): **** $p < 0.0001$ la comparación se realizó con respecto al vehículo y (ns) la comparación se realizó conforme a las dosis; (n=8).

El modelo de inflamación inducido por carragenina es comúnmente utilizado para evaluar el efecto de los AINES así como para evaluar la actividad antiinflamatoria vía oral en extractos y fracciones de productos naturales, en la fase inicial (primeras seis horas) participan la serotonina, PLA₂, histamina, cininas, metabolitos derivados del ácido araquidónico (leucotrienos y prostaglandinas) y óxido nítrico, es decir, que la inflamación producida por la carragenina se debe fundamentalmente a que esta sustancia estimula la producción de prostaglandinas, las cuales derivan del metabolismo del ácido araquidónico y promueven los procesos inflamatorios-inmunológicos y angiogénicos (Regalado, A., Sánchez, L. & Mancebo B. 2015).

El grupo de indometacina se utilizó como referencia para medir el efecto farmacológico de los extractos, debido al efecto de esta para inhibir las ciclooxigenasas, que bloquea la cascada de ácido araquidónico disminuyendo la

formación de prostaglandinas las cuales intervienen en los procesos inflamatorios (Sebastián, J. 2002; del Arco, J. 2015).

Se procedió a realizar el modelo de formalina para medir el efecto antinociceptivo del extracto acetónico, esto debido a que la inflamación tiene mecanismos moleculares que la vinculan con el dolor, esto es desencadenado por lesiones tisulares que dan lugar a una respuesta inflamatoria a través de la transducción en señales eléctricas y estos estímulos nocivos son detectados por las terminaciones nerviosas (nociceptores) los cuales responden a los estímulos nociceptivos (Frias, B., & Merighi, A. 2016; Woolf, C. 2010).

6.4 Efecto antinociceptivo (Formalina 1%)

Como se muestra en la (Figura 5), después de la inyección subcutánea de formalina al 1 % en el dorso de la pata posterior derecha la cual produjo un patrón típico de sacudidas, las cuales se cuantificaron para observar el curso temporal de la respuesta nociceptiva en modelo de formalina la cual demuestra tener un comportamiento bifásico; en la fase I demuestra una respuesta decreciendo gradual en aproximadamente 0 a 10 min., en la fase II demuestra una respuesta creciendo gradual en aproximadamente 10 a 60 min.

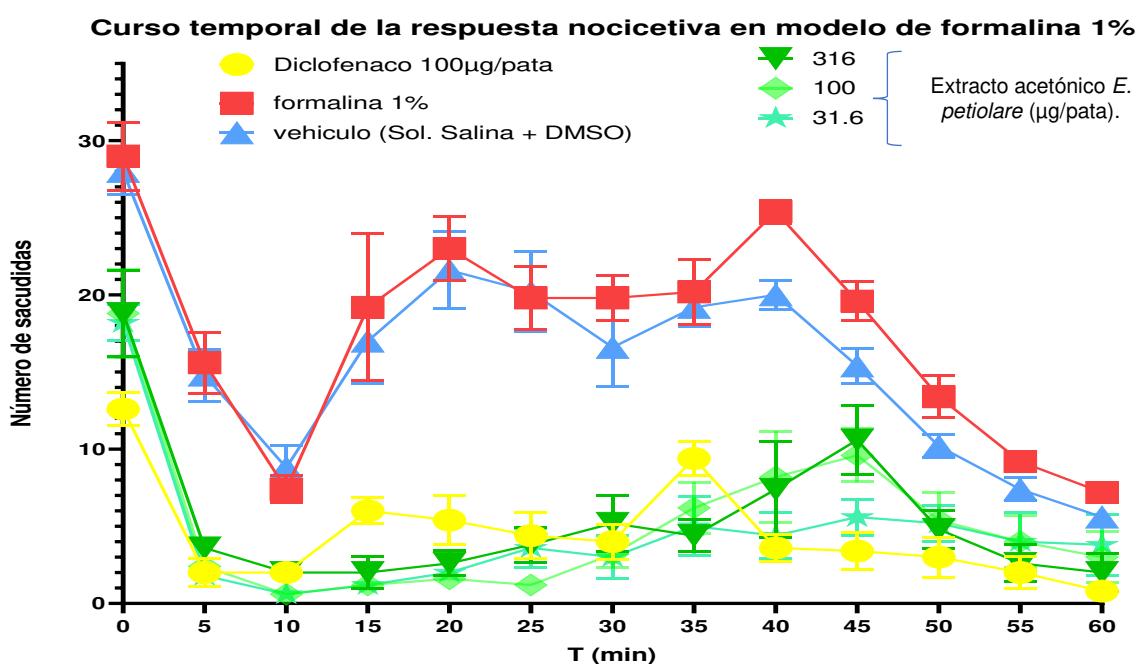


Figura 5. Curso temporal (sacudidas de pata tratada) inducida por la inyección subplantar de formalina al 1 %, vehiculo, diclofenaco y el extracto acetónico de *Eupatorium petiolare* a diferentes dosis ($\mu\text{g/pata}$). Cada uno de los puntos y las líneas verticales que los atraviesan representan la media \pm el error estándar ($n=5$).

Una vez que se obtuvo el curso temporal se procedió a obtener las áreas bajo la curva (ABC) para observar el efecto global de la evaluación farmacológica del

extracto acetónico de *Eupatorium petiolare* y partiendo de estos valores se realizó el cálculo para obtener los porcentajes de Antinocicepción

Tratamientos	Dosis (µg/pata)	ABC Fase I	ABC Fase II	% Antinocicepción Fase I	% Antinocicepción Fase II
Formalina 1%	-	169±15.16	884.5±61.84	-	-
Diclofenaco	100	46.5±5.39	213±36.89	75.92±4.17	72.49±3.19
Extracto acetónico	316	70±5.36	227±42.82	74.34±4.84	58.58±3.17
	100	60±9.13	212±42.70	76.03±4.82	64.2±5.4
	31.6	56±4.65	181±57.26	79.54±6.47	66.86±3.75
Vehículo (Sol. Salina+ DMSO)	-	166±14.33	774±42.45	12.49±4.8	1.77±8.48

Tabla 4. Efecto del extracto acetónico y controles (Formalina1%, diclofenaco y vehículo) en el área bajo la curva (ABC) y % de inhibición del dolor nociceptivo (Fase I) y dolor inflamatorio (Fase II).

Como se muestra en la tabla 4, los resultados obtenidos de los grupos Formalina 1%, vehículo (sol. salina + DMSO 5%), diclofenaco (100 µg/pata) y las diferentes dosis del extracto acetónico *Eupatorium petiolare* desarrollaron diferentes respuestas en área bajo la curva (ABC) y porcentajes de Antinocicepción en ambas fases; El efecto de la formalina (control negativo) ABC fase I 169±15.16 y el ABC fase II 884.5±61.84 y los animales del grupo vehículo (Sol. Salina+ DMSO), desarrollaron ABC (166±14.33 fase I y 774±42.45 fase II) muy similar al grupo control negativo, por lo cual se puede observar que la Sol, Salina + DMSO no interfiere en el modelo experimental, por otro lado, el grupo que recibió diclofenaco (100 µg/pata) el cual tuvo un porcentajes de Antinocicepción en la fase I de 75.92±4.17% y en la fase II de 72.49±3.19 %, observándose el efecto del principio activo para controlar el comportamiento bifásico del dolor (nociceptivo fase I e inflamatorio fase II) causado por agente inductor dentro de este modelo experimental.

El extracto acetónico se administró de manera subcutánea en el dorso de la pata posterior derecha a diferentes dosis (31.6, 100 y 316 µg/pata) teniendo las siguientes respuestas de porcentajes de Antinocicepción; en la fase I fue de 79.54±6.47, 76.03±4.82 y 74.34±4.84 % respectivamente y en la fase II fue de 66.86±3.75, 64.2±5.4 y 58.58±3.17 % respectivamente. Los resultados obtenidos con este modelo (figura 6) indican que el extracto acetónico administrado de forma subcutánea en dosis de 316,100 y 31.6 µg/pata inhibe significativamente el dolor nociceptivo y el dolor inflamatorio, y no se observa relación dosis/efecto, debido a que el efecto farmacológico del extracto no depende la dosis.

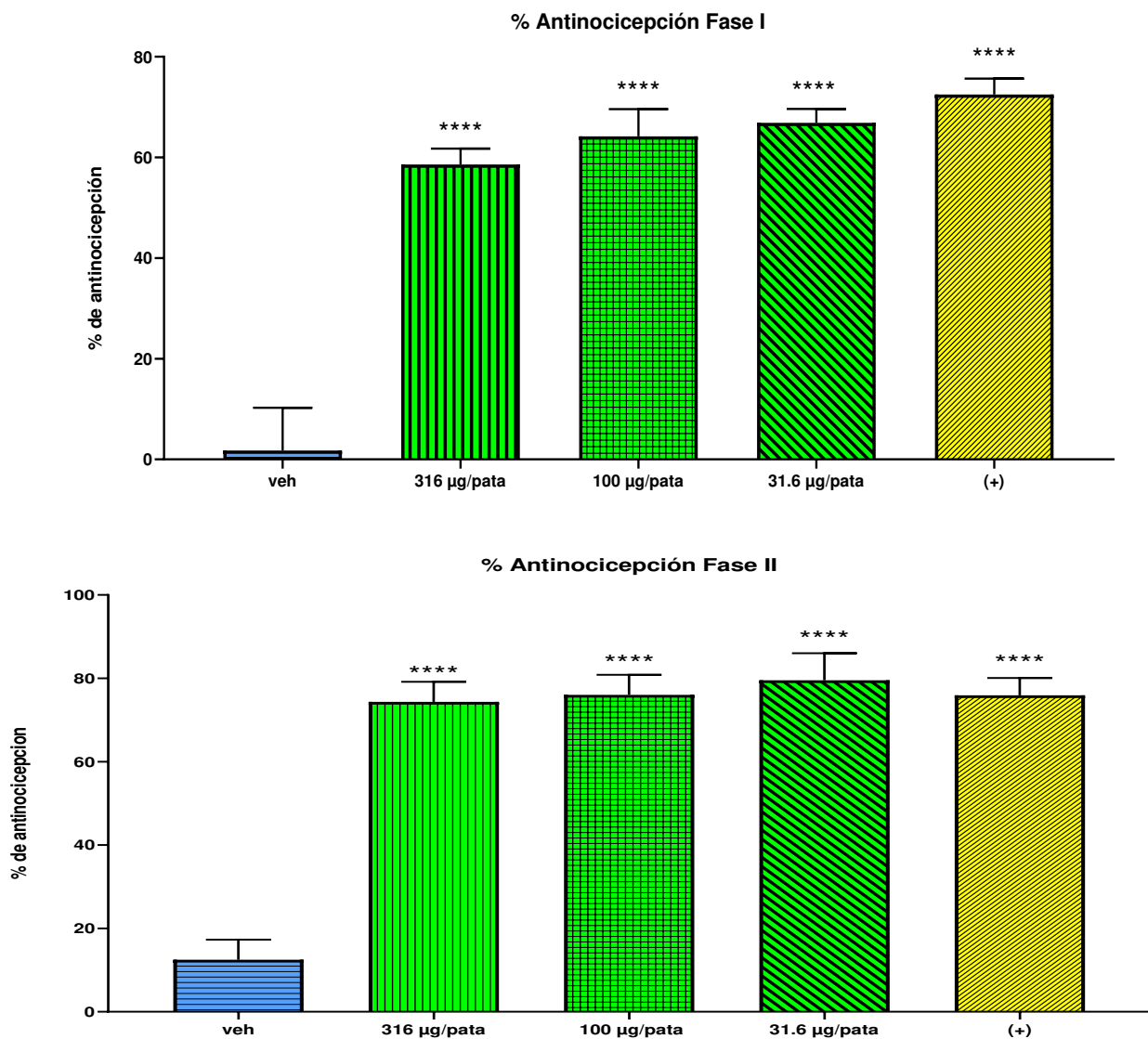


Figura 6. (A) % de Antinocicepción: Fase I, indicativa del dolor nociceptivo. (B); % de Antinocicepción: Fase II, indicativa del dolor inflamatorio. Comparación entre los grupos controles (formalina 1%, Diclofenaco y vehículo) y los grupos tratados con el del extracto acetónico de *Eupatorium petiolare* a diferentes dosis ($\mu\text{g/pata}$): **** $p < 0.0001$ la comparación se realizó con respecto al vehículo; (n=5).

El modelo de formalina es un modelo ampliamente utilizado ya que se evaluar la manera en que el animal responde a un dolor moderado y continuo (tónico) generado por un daño tisular, siendo actualmente el modelo de dolor en investigación básica más utilizado ya que algunos autores consideran que el modelo de la formalina refleja más fehacientemente algunos estados de dolor clínico que otros modelos que utilizan estímulos mecánicos o térmicos físicos (Montes, J., et al, 2012).

La inyección subcutánea de formalina al 1 % fue de manera local en el dorso de la pata posterior derecha provoca una respuesta comportamental espontánea de dolor, induce procesos que implican cambios en el sistema nervioso central, como la expresión del factor de transcripción c-Fos en las neuronas (lo cual es útil para identificar neuronas implicadas en procesos de sensibilización central) y la activación de células gliales que pueden liberar citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores, lo que puede influir en la función neuronal y en los cambios a largo plazo, La inyección de formalina produce una respuesta dolorosa bifásica, con una primera fase de corta duración (primeros 5 minutos) y una segunda fase (10-60 minutos después de la inyección), tradicionalmente se ha considerado que la primera fase se debe a la activación directa de los nociceptores periféricos, y que la segunda es consecuencia de una respuesta dolor inflamatorio con sensibilización de las neuronas nociceptoras de la médula espinal lo que ocasiona una sensibilización del Sistema Nervioso Central (Montes, J., *et al*, 2012; Cendán, C. 2017).

El grupo de diclofenaco se utilizó como referencia debido a que el diclofenaco pertenece al grupo de fármacos no esteroideos (AINEs) actuando sobre la Inhibición competitiva y reversible de la enzima ciclooxigenasa, las cuales bloquean la cascada de ácido araquidónico encargada de la síntesis de prostaglandinas (Pgs) presentando una acción antiinflamatoria, analgésica, así como antipirética en modelos animales gracias a su mecanismo de acción, por este motivo es mayormente utilizado en este modelo ya que como se reporta en la literatura este fármaco tiene gran efecto sobre padecimientos que afectan el sistema musculoesquelético que se encuentra relacionado a sufrir dolor de tipo nociceptivo e inflamatorio los cuales se encuentra presentes en este modelo experimental (Diclofenac, 2017; Alfaro, R. & Davis, D. 2021).

7 Conclusión

Los extractos de la planta *Eupatorium petiolare* con diferentes disolventes presentan actividad antiinflamatoria y antinociceptiva distintas; el extracto acetónico presentó un mayor efecto farmacológico que el extracto hidroalcohólico en los diferentes modelos experimentales, llegando a tener un efecto muy similar a los medicamentos utilizados como referencias-

8 Recomendaciones

Se recomienda fraccionar el extracto acetónico para determinar en qué fracciones se encuentran los principales metabolitos secundarios que tengan efecto antiinflamatorio y antinociceptivo, así como realizar pruebas fitoquímicas para la identificación de los posibles metabolitos responsables del efecto farmacológico.

9 Referencias

- Andrade, A., Bustos, C., Giraldo, J., Moreno, A., & Quijano, L. (2016). Acute hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Ageratina petiolaris*. *Journal of ethnopharmacology*, 185, 341–346. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.048>
- Atanasov, A., Waltenberger, B., Pferschy, E., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E., Rollinger, J., Schuster, D., Breuss, J., Bochkov, V., Mihovilovic, M., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V. & Stuppner H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review.
- Alfaro, R., & Davis, D. (2021). Diclofenac. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- *Biotechnology advances*, 33(8), 1582–1614. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>
- Bauer, B. A., Tilburt, J. C., Sood, A., Li, G. X., & Wang, S. H. (2016). Complementary and alternative medicine therapies for chronic pain. *Chinese journal of integrative medicine*, 22(6), 403–411. <https://doi.org/10.1007/s11655-016-2258-y>
- Boyd, A., Bleakley, C., Hurley, D., Gill, C., Hannon, M., Bell, P., & McDonough, S. (2019). Herbal medicinal products or preparations for neuropathic pain. *The Cochrane database of systematic reviews*, 4(4), CD010528. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010528.pub4>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, 180, 114-147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Bustos, C. (2016). Aislamiento, determinación estructural y evaluación de la actividad biológica de metabolitos secundarios de especies del género *Ageratina*, Tesis doctoral no publicada. Universidad Nacional Autónoma de México
- Cervantes, R., Cervantes, A., & Presno J. (2014). Mecanismos de señalización involucrados en la resolución de la inflamación. *Gaceta Médica de México*. 150: 440-9
- Cendán, C. (2017). Estudios experimentales en dolor agudo e inflamatorio: el modelo de la administración intraplantar de formalina en el ratón. *port. Estud. Func. Investig. Farmacol. Básica*, 12(1), 103-112.
- Covarrubias, A., Guevara, U., Gutiérrez, C., Betancourt, J. & Córdova, J. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 33(4), 207-213.

- Calvo, R. & Torres, L. (2017). Tratamiento con opioides en dolor crónico no oncológico: recomendaciones para una prescripción segura. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 24 (6), <https://dx.doi.org/10.20986/resed.2017.3550/2016>
- Calderón, J., Quijano, L., Garduño, M., Gómez, F., & Rios, T. (1983). 2a-isovaleroyloxyeperuic acid, a diterpene from *Eupatorium petiolare*. *Phytochemistry*, 2617-2619.
- del Arco, J. (2015). Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. *Farmacia Profesional*. Vol. 29. Núm. 1, 36-43.
- Dinarello C. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935–950. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.04>
- DrugBank Online [actualizado 26 febrero 2022; Recuperado 27 de febrero de 2022]. Indomethacin: Uses, Interactions, Mechanism of Action. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00328>
- DrugBank Online [actualizado 26 febrero 2022; Recuperado 27 de febrero de 2022]. Diclofenac: Uses, Interactions, Mechanism of Action. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00586>
- Diclofenac. (2017). In *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.
- Fuentes, J. (2020). Updated version of the IASP definition of pain: one step forward or one step back. *Revista de la Sociedad Española de dolor*. DOI: [10.20986/resed.2020.3839/2020](https://doi.org/10.20986/resed.2020.3839/2020)
- Frias, B., & Merighi, A. (2016). Capsaicin, Nociception and Pain. *Molecules* (Basel, Switzerland), 21(6), 797. <https://doi.org/10.3390/molecules21060797>
- Gutiérrez, G. & Cadena, L. (2001). Breve reseña histórica sobre el estudio del dolor. *Revista MedUNAB*, vol. 4, No. 10,1-5
- García, L., Martínez, M. & González, H. (2001). Inflamación y dolor: cambios en el sistema nervioso periférico y central. *Revista MedUNAB*. vol. 4, No. 10,1-14
- García, P., (2008). INFLAMACIÓN. *Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat*. Vol. 102, No. 1, 91-159. ISSN 1137-2141
- González, R., Martínez, M., García, E., & Guisado, R. (1994). El proceso inflamatorio.
- Gómez, A. (2011). Opiáceos. Indicación en dolor no maligno. *Farmacia profesional*, 25 (4).

- García, E., Ramírez, C., del Rio Torres, R., & Martínez, M. (2011). Una revisión de Eupatorium (Compositae: Eupatorieae) de Michoacán. *Phyton (Buenos Aires)*, 80 (2), 139-146.
- INEGI. (2020, 30 marzo). *Censo de Población y Vivienda 2020*. Recuperado 2 de mayo de 2022, de <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/>
- IMSS. (2021, agosto). Informe de Labores y Programa de Actividades, 2020–2021 (Primera edición, 2021.). Gobierno de México. <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/pdf/informes/2021/ILPA-20-21.pdf>
- Lucas S. (2016). The Pharmacology of Indomethacin. *Headache*, 56(2), 436–446. <https://doi.org/10.1111/head.12769>
- Li, S., Liu, X., Chen, X., & Bi, L. (2020). Research Progress on Anti-Inflammatory Effects and Mechanisms of Alkaloids from Chinese Medical Herbs. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2020, 1303524. <https://doi.org/10.1155/2020/1303524>
- Munjal, A., & Allam, A. (2021). Indomethacin. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Montes, J., Pacheco, K., Figueroa, J., Inga, V., Ortega, Y., Flores, C., Acosta, E., Torres, V. & Salazar, A. (2012). Análisis de la actividad antiinflamatoria y analgésica aguda de la metformina mediante el Test de Formalina. *Rev Horiz Med*, 12(2).
- Ortega, A., Roca, A. & Micó J. (2002). Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev. Soc. Esp. Dolor*, 9(7), 447-453.
- Ortiz, M. & Castañeda, G. (2008). Examination of the interaction between peripheral lumiracoxib and opioids on the 1% formalin test in rats. *European journal of pain (London, England)*, 12(2), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2007.05.008>
- Núñez, Y., Montero, C., Agüero, S. & Muñoz, A. (2007). Efecto Antiinflamatorio Preclínico del Polvo Seco de Caléndula officinalis. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(4), 548-552. ISSN 0326-2383
- Rajaa, S., Carrb, D., Cohenc, M., Finnerupd, N., Florf, H., Gibsong, S., Keefeh, F., Mogili, J., Ringkampj, M., Slukak, K., Songl, X., Stevensm, B., Sullivann, M., Tutelmano, P., Ushidap T. & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *International Association for the Study of Pain*, 00, 1–7. <http://dx.doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Ruibal, A., Fernández, L., & González, M. (2004). Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. *Revista Cubana de Medicina*, 43(4).
- Regalado, A., Sánchez, L. & Mancebo B. (2015). Actividad anti-inflamatoria de los extractos metanólicos de hojas y de tallos de *Tabebuia hypoleuca* (C. Wright)

Urb. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 3(5), 109-117. ISSN 0719-4250

- Ronchetti, S., Migliorati, G., & Delfino, D. (2017). Association of inflammatory mediators with pain perception. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 96, 1445–1452. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.001>
- Regalado, A., Sánchez, L. & Mancebo, B. (2015). Anti-inflammatory activity of the methanolic extracts of leaves and stems from *Tabebuia hypoleuca* (C. Wright) Urb Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, vol. 3, núm. 5, 109-117.
- Souza Monteiro de Araujo, D., Nassini, R., Geppetti, P., & De Logu, F. (2020). TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. *Expert opinion on therapeutic targets*, 24(10), 997–1008. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1815191>
- Summ, O., & Evers, S. (2013). Mechanism of action of indomethacin in indomethacin-responsive headaches. *Current pain and headache reports*, 17(4), 327. <https://doi.org/10.1007/s11916-013-0327-x>
- Serra, H., Roganovich, J. & Rizzo L. (2012). Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *MEDICINA*, 72 (2), 0 ISSN 025-7680
- Subsecretaria de prestaciones de servicios médicos e insumos: dirección de medicamentos, tecnologías e insumos (2018). Cuadro Básico y Catálogo Institucional Edición 2018 Reumatología y Traumatología. Ciudad de México. <https://www.salud.cdmx.gob.mx/storage/app/media/2018-2024/medicamentos/FICHAS%20TECNICAS/Reuma%20Ed.%202018.pdf>
- Sebastián, J. (2002). Gastropatía por AINE. Efectos adversos. *Farmacia profesional*, 16 (7), 48-53.
- Thomford N., Senthebane D., Rowe A., Munro D., Seele P., Maroyi A., & Dzobo, K. (2018). Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1578. <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
- Tasneem, S., Liu, B., Li, B., Choudhary, M. I., & Wang, W. (2019). Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. *Pharmacological research*, 139, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.11.001>
- Tepper S. (2016). Editorial--Indomethacin. *Headache*, 56 (2), 421. <https://doi.org/10.1111/head.12770>

- Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., & Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5–17. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-T)
- Vane, J. & Botting, R. (1996). Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scandinavian journal of rheumatology. Supplement*, 102, 9–21. <https://doi.org/10.3109/03009749609097226>
- Velázquez, C., Cariño, R., Gayosso, J., Ortiz, M., Arciniega, M., Altamirano, D., Jiménez, L. & Bautista, M. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Geranium bellum* and its isolated compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 14, 506. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-506>
- Woolf, C., (2010). What is this thing called pain?. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 3742–3744. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>
- Winand, L., Sester, A., & Nett, M. (2021). Bioengineering of Anti-Inflammatory Natural Products. *ChemMedChem*, 16(5), 767–776. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000771>
- Williamson, E., Okpako, D. & Evans, F. (1996). Selección, Preparación y Evaluación Farmacológica de Material Vegetal, Tomo 1 (Vol. 1). John Wiley & Sons
- Young, J., Bonnie, P. & Spires, D. (1983). Tachyphylaxis in 12-0-Tetradecanoylphorbol Acetate- and Arachidonic Acid-Induced Ear Edema. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 80, No. 1, 48-52