



Universidad Nacional

**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



AT 2026-FFBB-018

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

**Tamizaje fitoquímico y actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) "Kerco"**

Presentado por:

**BUSTAMANTE PAUCAR ANDREA JEANNETH**

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es 4% por el cual se otorga el calificativo de:

**APROBADO**, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20152003

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 04 de febrero de 2026

Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE  
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Tamizaje fitoquímico y actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) "Kerco"

Línea de investigación:

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Autor:

BACH. BUSTAMANTE PAUCAR ANDREA JEANNETH

Ica, Perú

2026

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios, por guiarme en cada etapa de mi vida, por permitirme culminar este proyecto y por brindarme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para alcanzar uno de mis más grandes sueños.

A mi familia, mi mayor fuente de apoyo emocional, quienes han estado presentes en cada momento.

A mi padre, por los valores y principios que me inculcaron desde siempre y que hoy dirigen mi camino con firmeza. Y, en especial, a mi madre, por su amor incondicional y por creer en mí incluso cuando yo misma dudaba. Su apoyo ha sido esencial para llegar hasta aquí.

## **AGRADECIMIENTO**

A mis estimadas asesoras, Dra. Santos Haydee Chávez Orellana y Dra. Carmela Betty Ferreyra Paredes, por haber compartido generosamente sus conocimientos y experiencias, y por brindarme su valiosa orientación, confianza y constante motivación a lo largo del desarrollo de esta tesis. Su guía ha sido fundamental para alcanzar este objetivo académico.

A la Asociación Científica de Investigación Farmacéutica, por transmitirme su compromiso con la ciencia, fortalecer mi formación académica y profesional, y ofrecerme un apoyo constante en mi camino como futura farmacéutica.

A todas las personas que, de una u otra manera, me acompañaron y brindaron su apoyo en las diversas etapas de este trabajo, contribuyendo significativamente a su realización. Mi más sincero agradecimiento.

**ÍNDICE**  
**ÍNDICE DE CONTENIDOS**

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	12
1.2. Formulación del problema.....	12
1.2.1. Problema General.....	12
1.2.2. Problemas Específicos.....	13
1.3. Objetivos del estudio:.....	13
1.3.1. Objetivo general:.....	13
1.3.2. Objetivos específicos:.....	13
1.4. Hipótesis:.....	13
1.4.1. Hipótesis General.....	13
1.4.2. Hipótesis Específicas.....	13
1.5. Variables:.....	14
1.5.1. Variable independiente:.....	14
1.5.2. Variable dependiente:.....	14
1.6. Marco teórico.....	14
1.6.1. Antecedentes de la investigación.....	14
1.6.2. Descripción:.....	16
1.6.3. Clasificación botánica:.....	17
1.6.4. Hábitat:.....	17
1.6.5. Usos tradicionales:.....	18
1.6.6. Concepto del dolor:.....	19
1.6.7. Tipos de dolor.....	20
1.6.8. Transmisión y modulación del dolor.....	21
1.6.9. Fármacos analgésicos de mayor uso:.....	22

1.6.10. Fármacos utilizados: .....	23
1.6.11. Métodos de investigación de la actividad analgésica: .....	25
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA .....	27
2.1. Tipo y diseño de Investigación .....	27
2.3. Población y muestra .....	29
2.5. Estudio Farmacológico .....	34
2.6. Técnicas de procesamiento de la información: .....	38
2.7. Aspectos éticos: .....	38
IV. DISCUSIÓN.....	49
V. CONCLUSIONES .....	52
VI. RECOMENDACIONES .....	53
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de respuestas motoras.....	26
<b>Tabla 2.</b> Diseño de los grupos experimentales en el método del Plato caliente (Hot plate). .....	35
<b>Tabla 3.</b> Diseño de los grupos experimentales en el método inducción de contorsiones por ácido acético.....	37
<b>Tabla 4.</b> Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco”.....	40
<b>Tabla 5.</b> Actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “kerco” por el método del Plato caliente (Hot plate).....	41
<b>Tabla 6</b> .Análisis de varianza (ANOVA) entre los grupos de tratamiento .....	42
<b>Tabla 7.</b> Medias del umbral de dolor por grupo de tratamiento con intervalos de confianza (95%) .....	42
<b>Tabla 8</b> . Comparaciones múltiples de Tukey (95% IC): agrupación de tratamientos según media del umbral de dolor .....	43
<b>Tabla 9</b> . Comparaciones múltiples de Dunnett (95% IC): agrupación de tratamientos según media del umbral de dolor.....	43
<b>Tabla 10.</b> Media del número de contorsiones de los grupos experimentales.....	44
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de analgesia de los grupos experimentales .....	44
<b>Tabla 12.</b> ANOVA Factorial: Efecto del tratamiento, tipo de contorsiones y su interacción sobre la variable de respuesta .....	45
<b>Tabla 13.</b> Estimación de coeficientes del modelo lineal: Efectos principales e interacciones entre tratamiento y tipo de contorsiones.....	46
<b>Tabla 14.</b> Agrupación de tratamientos utilizando el método de Tukey con una confianza al 95% .....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Hábitat natural de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray).....	18
<b>Figura 2:</b> Ratón albino cepa Bal/c.....	35
<b>Figura 3:</b> Comparación del efecto analgésico por el método del Plato caliente (Hot plate) con los diferentes tratamientos. ....	42
<b>Figura 4:</b> Gráfico de comparaciones múltiples de Tukey .....	43
<b>Figura 5:</b> Comparación del efecto analgésico por el método de inducción de contorsiones por ácido acético (0.5%) con los diferentes tratamientos.....	44
<b>Figura 6:</b> Comparaciones múltiples de Tukey al 95% para el conteo de contorsiones entre tratamientos.....	47
<b>Figura 7:</b> Comparación de la media del conteo de contorsiones por tratamiento y tipo de contorsión.....	48

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue realizar un análisis fitoquímico y evaluar la actividad analgésica del extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* mediante modelos experimentales in vivo en ratones albinos, con el fin de aportar evidencia científica que respalde su uso tradicional. Se realizó un tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios. La actividad analgésica se evaluó utilizando dos modelos experimentales: el método del plato caliente, que permite analizar la acción analgésica de tipo central, y el método de inducción de contorsiones por ácido acético, que evalúa el efecto analgésico periférico. Como fármacos de referencia se emplearon tramadol (50 mg/kg) y ácido acetilsalicílico (AAS) (50 mg/kg). Las dosis del extracto evaluadas fueron de 250, 500 y 750 mg/kg.

El extracto de *Vasconcellea candicans* reveló la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, grupos amino libres, compuestos fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, antraquinonas, flavonoides, leucoantocianidinas y saponinas.

El extracto mostró efecto analgésico periférico significativo en el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético, a la dosis de 750 mg/kg, superando al control positivo (AAS). Sin embargo, en el modelo del plato caliente, el efecto fue leve e inferior al tramadol.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* “Kerco” presenta actividad analgésica de tipo periférico, especialmente a dosis elevadas, respaldando su uso tradicional en el tratamiento del dolor. No obstante, su acción sobre el sistema nervioso central parece ser limitada, lo que sugiere que su mecanismo analgésico se asocia principalmente a la inhibición de mediadores periféricos del dolor.

Palabras clave: analgésico, *Vasconcellea candicans*, tramadol, AAS, fitoquímica

## ABSTRACT

The objective of this study was to perform a phytochemical analysis and evaluate the analgesic activity of the ethanolic extract of *Vasconcellea candicans* using in vivo experimental models in albino mice, in order to provide scientific evidence to support its traditional use.

Phytochemical screening was performed to identify secondary metabolites. Analgesic activity was evaluated using two experimental models: the hot plate method, which analyzes central analgesic action, and the acetic acid writhing method, which evaluates peripheral analgesic effect. Tramadol (50 mg/kg) and aspirin (ASA) (50 mg/kg) were used as reference drugs. The doses of the extract evaluated were 250, 500, and 750 mg/kg.

The *Vasconcellea candicans* extract revealed the presence of the following secondary metabolites: alkaloids, free amino groups, free phenolic compounds, triterpenoids and/or steroids, anthraquinones, flavonoids, leucoanthocyanidins, and saponins.

The extract showed a significant peripheral analgesic effect in the acetic acid-induced writhing model at a dose of 750 mg/kg, surpassing the positive control (ASA). However, in the hot plate model, the effect was mild and inferior to tramadol.

The results obtained allow us to conclude that the ethanolic extract of *Vasconcellea candicans* "Kerco" exhibits peripheral analgesic activity, especially at high doses, supporting its traditional use in pain treatment. However, its action on the central nervous system appears to be limited, suggesting that its analgesic mechanism is primarily associated with the inhibition of peripheral pain mediators.

Keywords: analgesic, *Vasconcellea candicans*, tramadol, ASA, phytochemistry

## I. INTRODUCCIÓN

La fitoterapia es la ciencia que estudia el uso de productos de origen vegetal con finalidad terapéutica para aliviar o curar los efectos de una patología.

En la actualidad se ha observado un incremento del interés en la utilización de plantas para tratar afecciones o problemas relacionados a la salud; ya que presentan menor riesgo de efectos secundarios en comparación con otro tipo de medicina.

Además, debemos recordar que muchos de los fármacos que existen hoy en día en el mercado farmacéutico provienen de plantas medicinales. Una de las ventajas de este tipo de medicina es la accesibilidad y riqueza de componentes, así como producir más de un efecto terapéutico deseado. Por otro lado, el Dr. LEE Jong-wook, exdirector General de la OMS, dice: **“La OMS apoya el uso de las medicinas tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad para el paciente y representan un riesgo mínimo”** (1,2).

Principalmente los analgésicos son medicamentos capaces de mitigar la sensación del dolor sin alterar la percepción; los más conocidos como la morfina y la papaverina fueron obtenidos de la especie *Papaver somniferum L.* Por otro lado; el ácido acetilsalicílico fue resultado de una modificación química de la salicina aislada de la especie *Salix alba L.* (3)

El dolor es una de las sensaciones más complejas y prevalentes que afectan a la humanidad, y su manejo adecuado es crucial para mejorar la calidad de vida de los pacientes. En la búsqueda de alternativas terapéuticas, los compuestos naturales provenientes de plantas medicinales han adquirido relevancia debido a sus propiedades farmacológicas y su menor perfil de efectos adversos en comparación con los fármacos sintéticos. En este contexto, *Vasconcellea candicans* (A. Gray), una especie de planta nativa de América Latina, ha sido utilizada tradicionalmente en diversas culturas para tratar diversas dolencias, aunque su actividad analgésica no ha sido suficientemente investigada.

El extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A.Gray) se ha destacado por sus propiedades medicinales en otros contextos, pero su potencial en el alivio del dolor sigue siendo un área de estudio poco explorada. Esta tesis tiene como objetivo principal evaluar la actividad analgésica de este extracto etanólico, a través de estudios preclínicos en modelos experimentales de dolor. Para ello, se emplearon métodos estandarizados que permitan analizar el efecto analgésico, comparando los resultados con tratamientos convencionales

El propósito de este trabajo es contribuir al conocimiento científico sobre los efectos terapéuticos de *Vasconcellea candicans* (A.gray) en el tratamiento del dolor, lo que podría abrir nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos naturales y accesibles. Además, se busca validar científicamente el uso tradicional de esta planta, proponiendo una base científica que justifique su inclusión en la farmacología moderna.

Finalmente, la investigación ha sido dividida en siete capítulos debidamente vinculados y ordenados:

Capítulo I – Introducción: se describe la realidad problemática, se presentan investigaciones recientes que forman parte de los antecedentes internacionales y nacionales relacionadas con el tema de estudio. Además, se expone la justificación e importancia de la investigación, los objetivos del proyecto y marco teórico.

Capítulo II – Estrategia metodológica: se explica el nivel y tipo de investigación, los materiales biológicos utilizados y los procedimientos experimentales empleados.

Capítulo III – Resultados: se presentan los hallazgos obtenidos, incluyendo la determinación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie estudiada, así como los ensayos de su actividad farmacológica.

Capítulo IV – Discusión: se interpretan los resultados obtenidos, relacionándolos de manera correlativa con los objetivos planteados.

Capítulo V – Conclusiones

Capítulo VI – Recomendaciones: se exponen las conclusiones extraídas a partir de los resultados de la investigación y se sugieren posibles líneas de estudio futuras que permitan profundizar o validar los hallazgos.

Capítulo VII – Referencias bibliográficas: se presentan las fuentes de información consultadas durante el desarrollo del trabajo, siguiendo el estilo Vancouver.

Capítulo VIII – Anexos: se incluyen materiales complementarios que respaldan y enriquecen la investigación.

## 1.1. Descripción de la realidad problemática

Los analgésicos son un grupo farmacológico que actualmente se consumen sin prescripción médica y es de acceso libre en los establecimientos farmacéuticos para tratar diferentes padecimientos dolorosos ya sea agudos o crónicos.

En Perú, la automedicación con AINE es muy común: aproximadamente el **68 %** de los usuarios adquieren estos medicamentos por cuenta propia, sin receta médica. Entre ellos, cerca del **64 %** adquieren marcas comerciales, y **13 %** optan por medicamentos de venta libre (4).

La escasa conciencia del uso indebido de los AINE por la población en general despierta una preocupación mundial por el riesgo que representa el uso excesivo y sin indicación. Los efectos gastrointestinales son los más comunes y pueden agravarse hasta ocasionar erosiones en la mucosa gastrointestinal; las cuales pueden ser causa de muerte en pacientes.

Estos efectos secundarios son consecuencia de la supresión de la producción de prostaglandinas responsables de producción de moco y bicarbonato que favorecen la microcirculación entérica.

Los pobladores del distrito de Santiago de Quirahuará (Departamento Huancavelica) donde se realizó la recolección de la especie en estudio, refieren que el “kerco”; como se conoce comúnmente esta especie, ha sido utilizada para tratar sus dolores como consecuencia del trabajo agrícola. Esto demuestra que en el ámbito rural con acceso limitado a medicamentos convencionales el uso de las plantas medicinales juega un papel terapéutico muy importante.

En ese sentido, explorar nuevos metabolitos secundarios en las plantas medicinales que se le adjudique propiedades farmacológicas, contribuye a la ampliación de conocimiento Fito terapéutico y ofrece alternativa de tratamientos seguros y accesibles para las poblaciones con limitada atención farmacéutica.

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema General

- ¿Presentará actividad analgésica el extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco”, y qué metabolitos secundarios están presentes en ella?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

- ¿Mostrará actividad analgésica el extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método del plato caliente (Hot plate)?
- ¿Tendrá actividad analgésica el extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método de inducción de contorsiones por ácido acético?
- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A.gray)?

### **1.3. Objetivos del estudio:**

#### **1.3.1. Objetivo general:**

- Evaluar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray).

#### **1.3.2. Objetivos específicos:**

- ✓ Identificar los posibles grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco”, mediante un tamizaje fitoquímico.
- ✓ Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método del plato caliente (Hot plate)
- ✓ Evaluar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método inducción de contorsiones por ácido acético.

### **1.4. Hipótesis:**

#### **1.4.1. Hipótesis General**

- El extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “Kerco” presenta actividad analgésica.

#### **1.4.2. Hipótesis Especificas**

- El extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “Kerco” presenta metabolitos secundarios relacionados a la actividad analgésica.
- Presenta actividad analgésica el extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “Kerco” por el método del plato caliente (Hot plate).

- El extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” presenta actividad analgésica por el método inducción de contorsiones por ácido acético.

## 1.5. Variables:

### 1.5.1. Variable independiente:

Extracto etanólico de la especie *Vasconcellea Candicans* (A.gray)

### 1.5.2. Variable dependiente:

Actividad analgésica

## 1.6. Marco teórico

### 1.6.1. Antecedentes de la investigación

#### 1.6.1.1. Antecedentes Internacionales:

**Zahra et al., (2025)** (5) en su estudio “Análisis in vivo e in silico de la actividad antiinflamatoria, antipirética y analgésica del extracto metanólico de *Nigella sativa*” tuvieron como objetivo evaluar las propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas del extracto metanólico de semillas de *Nigella sativa* mediante experimentos in vivo en ratas y estudios in silico (acoplamiento molecular). Se probaron diferentes dosis del extracto metanólico (250, 500, 1000 y 2000 mg/kg) en ratas albinas para medir fiebre, inflamación y dolor. Se utilizaron como estándares diclofenaco y paracetamol. Además, se identificaron compuestos bioactivos (como timol, p-cimeno, limoneno) y se realizó docking molecular con proteínas relacionadas con mecanismos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios. Finalmente se comprobó una inhibición significativa de fiebre (~96%), inflamación (~89%) y dolor (~85%) con el extracto. Los compuestos identificados mostraron buena afinidad en el acoplamiento molecular con proteínas objetivo vinculadas a los efectos farmacológicos deseados.

**Ayanaw et al., (2023)** (6) en su trabajo de investigación “Evaluación de las actividades analgésicas y antiinflamatorias de extractos metanólicos de hojas y raíces de *Gomphocarpus purpurascens* A. Rich (Asclepiadaceae) en ratones” evaluaron las actividades analgésicas y antiinflamatorias de los extractos metanólicos al 80 % de hojas y raíces de *Gomphocarpus purpurascens*. Se realizó un análisis fitoquímico preliminar que reveló la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides, saponinas, alcaloides, taninos, terpenoides, antraquinonas, esteroides y fenoles. La actividad analgésica central se evaluó mediante el método de placa caliente, mientras que la

periférica se midió con la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético. El extracto de raíz mostró inhibición analgésica dosis-dependiente, alcanzando un 83 % con 400 mg/kg. En el test de placa caliente, dosis de 200 y 400 mg/kg mostraron un aumento significativo del tiempo de latencia. Para la actividad antiinflamatoria, se utilizaron modelos de edema inducido por carragenina y formalina, donde el extracto de hojas mostró efectos significativos entre las 2 y 4 horas tras la inducción. Todas las dosis probadas inhibieron de manera significativa la inflamación inducida por formalina. El estudio incluyó pruebas de toxicidad aguda oral siguiendo las pautas de la OCDE. Los resultados respaldaron el uso tradicional de esta planta como agente analgésico y antiinflamatorio.

**Jahan et al., (2022)** (7) en su estudio “Evaluación in vivo e in silico de las actividades analgésicas e hipoglucemiantes de *Amaranthus blitum* L” evaluaron la actividad analgésica e hipoglucemiante del extracto metanólico de *Amaranthus blitum* L. (ABME) mediante pruebas in vivo e in silico. En la prueba de contorsión inducida por ácido acético, las dosis de 250 mg/kg y 500 mg/kg mostraron reducciones significativas del dolor (39.48% y 51.20%, respectivamente). En el test de placa caliente, la dosis de 500 mg/kg aumentó significativamente el tiempo de latencia a 16.92 segundos. Además, el extracto mostró un efecto hipoglucemiante en ratones inducidos con estreptozotocina. Los estudios in silico indicaron que varios compuestos del extracto tienen afinidad por enzimas relacionadas con el dolor y la diabetes, con puntuaciones de acoplamiento comparables a medicamentos convencionales como celecoxib y glibenclamida. Los resultados respaldan el potencial terapéutico de *Amaranthus blitum* como fuente natural para el desarrollo de fármacos analgésicos e hipoglucemiantes.

#### 1.6.1.2. Antecedentes Nacionales

**Gutiérrez-Román et al., (2023)** (8) evaluaron la capacidad antioxidante de la pulpa de *Vasconcellea candicans* (“mito”) en dos estados de madurez usando extractos acuosos y etanólicos al 70 %. Encontraron que los extractos etanólicos presentaron mayor captación de radicales libres (hasta 89,7 % en fruta madura), así como valores destacados de IC<sub>50</sub> comparables o superiores a papaya común; el IC<sub>50</sub> más bajo (mayor potencia antioxidante) se observó en el extracto etanólico maduro. No se encontró correlación directa entre polifenoles totales, capacidad antioxidante y IC<sub>50</sub>, concluyendo que el estado de madurez influye principalmente en el contenido de polifenoles, y que el tipo de disolvente afecta significativamente la actividad antioxidante.

**Donayre-Aguilar, (2022)** (9) en su trabajo de tesis: “Capacidad antioxidante y antibacteriana de extractos crudos de hoja de *Vasconcellea candicans* (a. gray) a. dc 1864 mito”, evaluó los extractos crudos de las hojas de *Vasconcellea Candidans* por el método de maceración con agua, metanol y etanol; pudiendo cuantificar los fenoles totales y la actividad antibacteriana con *Acetobacter sp.* utilizando un microorganismo de contraste como *Saccharomyces cerevisiae*. Los antioxidantes obtenidos fueron los polifenoles expresados en mg/g de material seco, resultando el extracto acuoso el de mayor poder antioxidante con 36.34 mg/g y el extracto metanólico con 86% de inhibición al crecimiento bacteriano frente a los otros.

**Herrera-Calderon et al., (2022)** (10) en su investigación “Actividad antioxidante e hipoglucemiante de *Vasconcellea candicans gray* en ratones albinos: una fruta andina de la flora peruana”; evaluaron la capacidad antioxidante e hipoglucemiante del fruto de *Vasconcellea candicans gray* utilizando un extracto etanólico que se aplicó a ratones albinos inducidos a hiperglucemia por administración de aloxano a una dosis de 170mg/kg; se incluyeron en el ensayo ratones con niveles de glucosa mayor a 250 mg/dl. Se formaron 5 grupos de animales divididos aleatoriamente (I: recibe agua destilada 10ml/kg; al grupo II, III y IV, se le aplicó extracto de *Vasconcellea candicans* en concentración de 100, 300 y 500 mg/kg respectivamente; y al grupo V se le aplicó glibenclamida 5mg/kg). Después de 14 días de tratamiento, el extracto etanólico resultó eficaz reduciendo la glucosa en 70,5% a una dosis de 500mg/ kg de peso corporal en ratones albinos. Al extracto etanólico se le realizó un análisis fitoquímico determinando la presencia de flavonoides, triterpenos, saponinas y compuestos fenólicos. La actividad antioxidante se determinó por dos métodos: DPPH y ABTS; el cual arrojó un IC<sub>50</sub>=19,6±0,5 ug/ml y 5,05±0,01 ug/ml respectivamente.

### **1.6.2. Descripción:**

*Vasconcellea candicans* (A.gray) también llamada “mito”, “jerku” o “kerco”; es un árbol xerófilo que alcanza los 3 metros de altitud y posee tallos ramificados, gruesos y carnosos; sus hojas son alternas, pecioladas, con un color verde oscuro en el haz y un tomento blanco finamente en el envés. Las flores son unisexuales, dimórficas; las flores masculinas de color blanco verdoso, racimosas y con peciolo corto; las flores femeninas solitarias verdosas. Las semillas con forma ovoidal sin sarcotesta que miden 8 mm de longitud según Weberbauer (11).

Según Carvalho (12), *Vasconcellea candicans* es un árbol o arbusto caducifolio que alcanza una altitud de hasta 7 m y 10 a 40 cm de diámetro.

Sagástegui et al. (13) la describen como un árbol pequeño decíduo, de hasta 6 m de alto, con tallos ramificados, gruesos y carnosos.

Sinonimia de esta especie:

- *Papaya candicans* (A. Gray) Kuntze
- *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC.
- *Carica candicans* A. Gray

### 1.6.3. Clasificación botánica:

Se realizó la recolección de la especie *Vasconcellea candicans* (A. Gray) y se procedió a seleccionar una muestra que se trasladó al museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su identificación y posterior clasificación taxonómica. (ver anexo)

La constancia de clasificación realizada (N° 019-USM MHN-2024) según el sistema de clasificación de APG IV (2016), tuvo como resultado la siguiente posición taxonómica:

ORDEN: Brassicales Bromhead

FAMILIA: Caricaceae Dumort

GÉNERO: *Vasconcellea* A. St.-Hil.

ESPECIE: *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC.

NOMBRE VULGAR: “Kerco”

### 1.6.4. Hábitat:

El límite superior de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) está a los 3000 m de altura en el Centro y Sur, y en el norte entre 2000 y 2600 m. Se distribuye en el Perú en los departamentos de Ayacucho, Ica, Arequipa, Cajamarca, Lima, La Libertad, Piura, Moquegua y Tacna. Ha sido una especie nativa adaptada desde las lomas y vertientes noroccidentales del Perú y sur del Ecuador (14).



**Figura 1:** Hábitat natural de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray)

#### **1.6.5. Usos tradicionales:**

La especie *Vasconcellea candicans* ha sido asignada por varios autores por presentar propiedades curativas en su látex y fruto. Cabieses (15) indica que, si se usa el látex de esta especie en tejidos muertos como una herida infectada o una ulcera, éste actuará eliminando el pus, soltando los coágulos sanguíneos y limpiando el tejido vivo. Zuluaga (16) aporta que el látex es usado como antiparasitario y para eliminar verrugas de la piel.

En 1999, Brack (17) señala que el fruto se utilizaba para tratar problemas digestivos y el látex para el tratamiento de la uta y verruga. De Feo et al. (18) indica que en Huaraz se utiliza el látex de la planta contra la uta; Muñoz y Pareja (19) también señalan que en Perú es muy utilizada la especie para esos fines.

Los análisis realizados del género *Vasconcellea* por Scheldeman en el 2000, demuestran que la efectividad del látex en seco de las especies *V.stipulata* y *V.candicans*, es 20 veces mayor a la de *Carica papaya*. Además, en el 2001 señaló el uso del látex como antihelmíntico y en el tratamiento contra la diabetes, enteritis y algunas enfermedades del hígado. *Vasconcellea candicans* presenta en su composición enzimas proteolíticas característico de la familia caricaceae, la principal es la papaína. Ésta es muy demandada en la industria para la fabricación de gomas de mascar, cerveza o preparación de medicamentos para tratar dolencias digestivas o heridas gangrenosas (20, 21).

El género *Carica* destaca por sus propiedades medicinales, especialmente en el tratamiento de trastornos gastrointestinales, ya que sus semillas molidas se utilizan para aliviar la dispepsia biliar y actúan como suavizantes de las mucosas digestivas, además de poseer efectos antisépticos.

Investigaciones realizadas en japon determinaron que la papaya cuando no está totalmente madura ejerce una acción bacteriostática y el látex es usado como antihelmíntico. Así como la presencia de la vitamina A contribuye a la regeneración de tejidos relacionados a las afecciones de la piel como eczemas o acné (22).

#### **1.6.6. Concepto del dolor:**

De acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, el dolor se define como "una experiencia sensorial y emocional desagradable vinculada a un daño tisular real o potencial, o explicada en relación a dicho daño, o ambos". Esta definición resalta la esencia subjetiva y psicológica del dolor y, adecuadamente, previene que su veracidad se base en un estímulo externamente comprobable (23).

Actualmente el dolor es el motivo principal por el cual los pacientes visitan al doctor, y su alivio debería ser uno de los motivos primordiales de resolver en la medicina.

Cuando se habla de dolor abarca muchos aspectos según su presunta fisiopatología como el origen y localización, es por ello que se clasifica teniendo en cuenta diversos factores.

### **1.6.7. Tipos de dolor**

**Según el componente sensorial del dolor se clasifica en dolor nociceptivo (somático y visceral) y dolor neuropático.**

#### **1.6.7.1. Dolor nociceptivo**

También llamado dolor fisiológico que nace en respuesta a un daño tisular y forma parte de un sistema de alerta temprana encargada de dirigir las neuronas del SNC a responder con acciones que minimicen lesiones adicionales a dicho daño.

El dolor nociceptivo somático suele responder muy bien a los AINE, AAS y esteroides, puede ser superficial y profundo. Sus receptores se localizan en piel, tejidos subcutáneos, tejidos conectivos, aponeurosis, periostio, endostio y capsulas articulares.

El dolor nociceptivo visceral responde con mayor eficacia a opioides y suele definirse como un dolor no localizado e irradiado que en la gran mayoría suele confundirse. Estos receptores se localizan en las vísceras o tejidos conectivos circundante.

#### **1.6.7.2. Dolor neuropático**

Nace como el componente emocional del dolor y es ocasionado por una disfunción del sistema nervioso a nivel central o periférico; se dividen como positivos y negativos. El dolor neuropático con síntomas positivos es bien tolerado con los anticonvulsivos, mientras que los síntomas negativos son bien dominados por los antidepresivos.

**Según la duración de los procesos dolorosos se clasifica el dolor como dolor agudo y crónico.**

#### **1.6.7.3. Dolor agudo:**

Surge en respuesta a un daño tisular y en consecuencia la activación de los receptores periféricos del dolor y sus fibras nerviosas sensitivas A delta y fibras C.

El dolor agudo usualmente comprende dos fases:

- Primera fase: alerta al organismo de estímulos potencialmente peligrosos
- Segunda fase: es un mecanismo de defensa caracterizado por la «protección» del tejido lesionado para garantizar la curación y la recuperación.

El dolor agudo tiene una duración de menos de 30 días.

#### **1.6.7.4. Dolor crónico:**

Frecuentemente, es resultado de la activación persistente de las fibras nerviosas dañando el sistema nervioso central o periférico.

El dolor crónico puede extenderse por periodo largo de tiempo hasta 6 meses persistiendo aún más allá de la curación de la lesión.

Según la gravedad el dolor se puede clasificar como:

- Dolor leve
- Dolor moderado
- Dolor intenso

Se ha utilizado la escala numérica de clasificación del dolor (NRS) para que los pacientes expongan la intensidad de su dolor en una escala del 0 (sin dolor) al 10 (dolor no soportable).

Sobre estas bases el dolor ha sido clasificado como leve (1-3), moderado (4-6) e intenso (7-10) (24).

#### **1.6.8. Transmisión y modulación del dolor**

El dolor se transmite a través de fibras nerviosas que ingresan a la médula espinal por los ganglios de la raíz dorsal, donde hacen sinapsis en la asta posterior. Luego, cruzan al lado opuesto y ascienden por las columnas laterales hasta llegar al tálamo y, finalmente, a la corteza cerebral.

Cuando la estimulación dolorosa es persistente, como en los casos de dolor crónico, puede producirse una sensibilización del sistema nervioso. En este proceso, las neuronas de la asta dorsal y otras estructuras se vuelven hiperreactivas, haciendo que estímulos normalmente inofensivos generen dolor (alodinia) o que estímulos dolorosos leves se perciban con mayor intensidad (hiperalgesia). Esta sensibilización central implica una reorganización duradera de las vías neuronales.

Además, cuando ocurre una lesión tisular, se liberan sustancias como prostaglandinas, serotonina y bradicinina que sensibilizan a los nociceptores periféricos, intensificando aún más la respuesta al dolor.

La modulación del dolor ocurre en diferentes niveles del sistema nervioso mediante mediadores como endorfinas y monoaminas (ej. serotonina, noradrenalina), que pueden aumentar o reducir la percepción dolorosa. Esta comprensión fundamenta el uso de medicamentos como opioides, antidepresivos o anticonvulsivos en el tratamiento del dolor crónico.

Por último, los factores psicológicos influyen significativamente en la experiencia del dolor. No sólo modifican la expresión y el comportamiento ante este, sino que también participan en la modulación neuroquímica del dolor, favoreciendo cambios prolongados en su percepción (25).

### **1.6.9. Fármacos analgésicos de mayor uso:**

#### **1.6.9.1. AINE**

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son los analgésicos mayormente recetados en el mundo, ya son accesibles sin receta médica; además, presentan propiedades antiinflamatorias y antipiréticas.

La ciclooxigenasa (COX) generalmente explica el mecanismo de acción de los AINE. Fisiológicamente, la COX se segmenta en la isoforma constitutiva COX-1 bajo circunstancias normales y la isoforma inducible COX-2 en situaciones inflamatorias. No obstante, las isoformas de COX-1 y COX-2 también se hallan extensamente en el organismo humano, tales como en el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, el sistema cardiovascular, el sistema gastrointestinal, el sistema endocrino y el sistema reproductivo en situaciones habituales. Además, la COX-2 está particularmente presente en el cerebro, los riñones y el sistema reproductivo de la mujer. El mecanismo de acción de los AINE se basa en el bloqueo no selectivo y reversible de las enzimas ciclooxigenasa responsables de la liberación de prostaglandinas en la respuesta inflamatoria.

Actualmente se reconocen tres reacciones adversas a AINE más comunes: daño gástrico, daño renal y función antiplaquetaria. Por lo que es necesario consumir un AINE por un período corto de inflamación o dolor, considerando su vida media.

Estas reacciones adversas se pueden manifestar como trastornos gastrointestinales asociados a la lesión de la mucosa gastrointestinal, debido a la disminución de prostaglandina (PG) E<sub>2</sub> derivada de la inhibición de COX-1, como dispepsia y erosión gástrica, ulceración, perforación y sangrado; problemas renales vinculados a la retención de sodio y agua, hipertensión y lesión renal aguda hemodinámica debido a la disminución de PG E<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub>, resultante de la inhibición de COX-1 y COX-2, y problemas cardiovasculares y de agregación plaquetaria, tales como accidente cerebrovascular e infarto de miocardio a causade la reducción de PGI<sub>2</sub>, que se deriva de una mayor inhibición de COX-2 y una reducción de COX-1, y una mayor tendencia al sangrado debido a la disminución de tromboxano (TX) A<sub>2</sub>, producto de la inhibición de COX-1 (26).

### **1.6.9.2. Opioides:**

Los opioides se emplean frecuentemente para tratar el dolor agudo y crónico de intensidad moderada. Hay diversos opioides potentes disponibles, como la morfina, la oxycodona, la hidromorfona y el fentanilo, todos ellos con una eficacia significativa a nivel poblacional.

Los medicamentos opioides para la analgesia han sido empleados por más de 5000 años. Son compuestos que influyen en los receptores opioides, tales como  $\mu$ ,  $\kappa$  y  $\delta$ . De acuerdo con su efecto en los receptores opioides, pueden clasificarse en agonistas, antagonistas y parciales agonistas/antagonistas. Los agonistas opioides se acoplan a los receptores vinculados a la proteína G provocando una hiperpolarización en las células.

Los opioides son efectivos para el dolor nociceptivo tanto somático como visceral; no obstante, solo deben ser administrados en pacientes con trastornos crónicos no malignos si los doctores tienen la seguridad de que pueden disminuir la dosis progresivamente y luego interrumpirlos. Es necesario extremar la cautela al utilizar opioides de liberación inmediata en pacientes jóvenes con afecciones crónicas no malignas, en particular pancreatitis crónica (dolor visceral), síndrome de dolor regional complejo (dolor neuropático) o fractura de huesos (dolor somático). El progreso en el diagnóstico y terapia del cáncer ha permitido que los pacientes que se han recuperado totalmente de la enfermedad sean aspirantes a la adicción a los opioides.

Los medicamentos opioides tradicionales estimulan dos vías de comunicación intracelular: la vía de la proteína G provoca analgesia y disminuyendo la producción de AMPc; además, promueve la apertura de canales de potasio y el cierre de canales de calcio presinápticos, acciones que disminuyen la excitabilidad neuronal (27). Por otro lado, la activación de la vía de la  $\beta$ -arrestina contribuye a la desensibilización e internalización del receptor  $\mu$ -opioide, y se ha asociado con efectos adversos como la depresión respiratoria, el estreñimiento y el desarrollo de tolerancia (28).

### **1.6.10. Fármacos utilizados:**

#### **Aspirina:**

El ácido salicílico es un compuesto que posee varias especies y tiene una historia extensa de uso como fármaco. En el siglo V a.C., Hipócrates sugirió el uso de corteza de sauce para aliviar el dolor del parto y la fiebre.

Durante la era romana y la Edad Media, se empleaba tópicamente la corteza de sauce debido a sus propiedades curativas y a la mitigación del dolor de intensidad leve a moderada.

En 1763, el reverendo Edward Stone comunicó a la Royal Society acerca del éxito en el tratamiento de la fiebre usando el extracto de corteza de sauce (*Salix alba vulgaris*). En ese instante, Stone resaltó su gusto sumamente amargo.

Se descubrió la aspirina cuando se dieron cuenta que el extracto de sauce podía ser utilizado para aliviar el dolor y la inflamación. Estudios posteriores en el siglo XIX identificaron los principios activos como salicina, ácido salicílico y ácido acetilsalicílico. En 1829, Henri Leroux sintetizó la salicina y posteriormente la compañía Bayer registró el compuesto bajo el nombre comercial Aspirina en 1899.

La acción farmacológica de la aspirina fue investigada mediante ensayos clínicos, y en 1971 se comprobó que inhibe la síntesis de prostaglandinas (PG).

El hallazgo de la enzima ciclooxigenasa (COX) por Vane en 1971 permitió esclarecer los mecanismos de acción de analgésicos no opioides como el ácido acetilsalicílico (AAS), los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y los corticosteroides. A diferencia de otros AINE, el AAS actúa de manera única al inactivar irreversiblemente la COX. Esto ocurre a través de la acetilación covalente de residuos de serina en los sitios activos tanto de la COX-1 como de la COX-2. Esta inhibición permanente de la COX-1 está asociada a efectos adversos frecuentes, particularmente a nivel gastrointestinal, que van desde gastritis hasta úlceras pépticas y hemorragias digestivas.

La COX-1 es también la isoenzima predominante en las plaquetas maduras, donde convierte el ácido araquidónico en tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), un potente vasoconstrictor y promotor de la agregación plaquetaria. La inhibición del TXA<sub>2</sub> por el AAS es la base de su efecto antitrombótico.

Existe además una hipótesis sobre un efecto terapéutico adicional del AAS: se cree que, además de inhibir la producción de prostaglandinas por la COX-2, la aspirina favorece la síntesis de mediadores lipídicos protectores, como las lipoxinas. Así, el AAS tendría la capacidad de transformar la COX-2 en una fuente de compuestos con propiedades antiinflamatorias y resolutivas, algo que no ocurre con los AINE convencionales (29).

### **Tramadol:**

Compuesto químico cuyo nombre químico es clorhidrato de 2-(dimetilaminometil)-1-(3'-metoxifenil) ciclohexanol, su estructura se relaciona con la codeína, ya que es un análogo de 4-fenil-piperidina. Fue desarrollado y sintetizado en 1962 por la empresa alemana Grünenthal GmbH con fines analgésicos, aunque no fue comercializado bajo el nombre "Tramadol" hasta 1977. En los Estados Unidos, su introducción al mercado no ocurrió hasta después de 1995.

Aunque su potencia analgésica es aproximadamente una décima parte de la morfina, el tramadol es preferido por su perfil de seguridad, ya que presenta un riesgo significativamente menor de provocar depresión respiratoria o dependencia en comparación con otros opioides. Especialmente cuando se administra por vía parenteral, su potencial de abuso es reducido. Su efecto analgésico se debe a su acción agonista sobre los receptores opioides  $\mu$  (MOR), así como su interacción con los sistemas Gabaérgico, catecolaminérgico y serotoninérgico. También se le han atribuido propiedades antitusivas mediadas por la unión a receptores específicos.

Su origen natural sigue siendo motivo de controversia. Sin embargo, últimos estudios realizados por Boumendjel y colaboradores detectaron la presencia de tramadol en la planta africana *Nauclea latifolia*, en concentraciones muy bajas (<0,00002 % p/p) en la raíz y la corteza.

Se extrajo el tramadol utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), y su actividad analgésica fue evaluada a través de pruebas in vivo en ratones. Los receptores opioides, clasificados como receptores acoplados a proteínas G, se dividen en cuatro tipos, siendo el subtipo  $\mu$  el principal objetivo de los analgésicos opioides. En particular, el enantiómero (+)-dextro del tramadol demostró capacidad agonista sobre el receptor  $\mu$ , además de potenciar la liberación de dopamina a nivel central (27).

#### **1.6.11. Métodos de investigación de la actividad analgésica:**

- **Método de Hot plate**

El modelo de placa caliente en ratones se utiliza para evaluar los efectos antinociceptivos a nivel supraespinal, al analizar la respuesta de las fibras aferentes sensibles a la temperatura, específicamente las fibras A y C, cuando son sometidas a un estímulo térmico sobre una superficie a  $55 \pm 1$  °C. Al colocar al ratón dentro de un cilindro sobre la placa caliente, se observan tres respuestas conductuales características: salto, intento de salto y lamido de las patas delanteras.

- **Método de inducción de contorsiones por ácido acético**

Empleado para la detección del dolor visceral; y consiste en evaluar el número de contorsiones que presenta el ratón como respuesta a la administración del ácido acético 2%.

Se realizó un nuevo método de evaluación de contorsiones de ácido acético utilizando una concentración menor a la común (0.5%) que implica una disminución al sufrimiento del animal y la valoración independiente de la respuesta nociceptiva con una duración de 20 min para que nos pueda dar mayor confiabilidad (30).

La evaluación de esta prueba se realizó cuantificando la suma de los valores de las diferentes respuestas motoras que constituyen una contorsión.

Se asignó a cada respuesta motora una letra (A, B, C y D) de la siguiente manera:

**Tabla 1.** Clasificación de respuestas motoras

<b>RESPUESTA MOTORA</b>	<b>LETRA</b>
<b>Contracción abdominal sin rotación pélvica</b>	A
<b>Contracción abdominal con rotación pélvica</b>	B
<b>Contracción abdominal, rotación pélvica y extensión de una extremidad trasera</b>	C
<b>Contracción abdominal, rotación pélvica y extensión de las dos extremidades traseras</b>	D

Finalmente se realiza la suma de la puntuación final determinada durante los 20 minutos (31).

## II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

### 2.1. Tipo y diseño de Investigación

#### 2.1.1. Tipo de investigación

Esta investigación es aplicada, ya que resuelve un problema específico mediante la utilización de conocimientos científicos previamente adquiridos. Busca aumentar el conocimiento teórico y ofrecer soluciones prácticas en contextos reales, como en este caso, el estudio de los metabolitos secundarios presentes en *Vasconcellea candicans* (“Kerco”) y su potencial uso en el ámbito farmacológico (32).

#### 2.1.2. Diseño de Investigación

El estudio tiene un diseño experimental, donde se manipula de forma controlada la variable independiente el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* para evaluar su efecto sobre la variable dependiente, que es la actividad analgésica. Este diseño permite establecer una relación causa-efecto garantizando la validez de los resultados.

#### 2.1.3. Nivel de investigación

El presente estudio corresponde a un nivel de investigación descriptiva dado que demostró la existencia de metabolitos secundarios en el tamizaje fitoquímico y la presencia de actividad analgésica en el extracto etanólico de las hojas de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco”(33).

### 2.2. Materiales de trabajo

#### 2.2.1. Materiales de Laboratorio

1. Probetas
2. Placa Petri
3. Pinza metálica
4. Vaso de precipitado

5. Pipeta de 1mL, 5mL y 10mL
6. Propipeta
7. Embudo
8. Pera de bromo
9. Tubos de ensayo
10. Bagueta
11. Soporte universal
12. Fiola
13. Espátula de metal
14. Frascos de vidrio

### **2.2.2. Equipos**

- Balanza analítica BOECO
- Analgesímetro LETICA LE 7406

### **2.2.3. Reactivos**

- Etanol 96°
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico
- Diclorometano
- Hidróxido de Amonio
- Limadura de magnesio
- Cloruro férrico
- Ninhidrina
- Cloruro de Sodio
- Anhídrido acético
- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio
- Dragendorff
- Mayer
- Wagner
- Alcohol amílico
- Ácido Acético

### **2.2.4. Adicionales**

- Papel Kraft

- Papel de filtro
- Papel de aluminio
- Tiras reactivas de pH
- Viales
- Guantes estériles
- Mascarilla
- Jeringas 1 ml

#### 2.2.5. Fármacos:

- Tramadol
- Ácido acetilsalicílico

### 2.3. Población y muestra

#### 2.3.1. Población de estudio

Ratones albinos de la cepa Balb/C/CNPB.

#### 2.3.2. Criterios de inclusión

- Cepas específicas: Solo se utilizaron ratones albinos BALB/c, ampliamente utilizados en estudios de farmacología por su perfil genético y respuesta reproducible.
- Peso corporal adecuado: Ratones con peso promedio de 20–25 g, acorde con lo reportado en investigaciones con BALB/c de 4–6 semanas.
- Edad definida: Animales con edad promedio de 1 mes (~4 semanas), etapa adecuada para pruebas de actividad analgésica donde la maduración fisiológica permite respuestas consistentes.
- Sexo: Ratones machos

#### 2.3.3. Muestra

Ratones macho, con peso promedio de 20 a 25 g, procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS).

#### 2.3.4. Tamaño muestral y justificación estadística

Se emplearon 50 ratones albinos, divididos en dos métodos experimentales (placa caliente y prueba de contorsiones), con 25 animales por método. En cada método se conformaron 5 grupos experimentales (control negativo, control positivo y tres dosis del extracto), con 4 animales por grupo, sumando 20 en total, y se reservaron 5 animales adicionales por método como reemplazo en caso de exclusiones técnicas o sanitarias.

El cálculo del tamaño muestral se justificó mediante la ecuación de recursos (Resource Equation), donde  $E=N-G=25-5=20$ .

Donde:

**E** = número de unidades experimentales que representan los grados de libertad del error (es decir, la variabilidad que no se explica por los tratamientos).

**N** = número total de animales en el experimento.

**G** = número de grupos experimentales (por ejemplo, grupo control, tratamiento 1, tratamiento 2, etc.).

Este valor se encuentra dentro del rango recomendado (10–20) para experimentos con animales pequeños, asegurando un equilibrio entre rigor estadístico y número de sujetos empleados (34,35).

Asimismo, se siguieron las recomendaciones de las guías ARRIVE 2.0, que exigen explicar cómo se determinó el tamaño de muestra y reportar claramente el número de animales analizados (36). De manera complementaria, estudios recientes proporcionan criterios prácticos para la estimación de tamaño muestral en investigación animal (37).

Desde la perspectiva ética, la estrategia adoptada responde a los principios de las 3R y sus actualizaciones recientes, con énfasis en el refinamiento para mejorar el bienestar animal sin comprometer la validez científica (38). Además, se consideraron las propuestas de integración con los principios de las 3Vs (validez, valor y veracidad), que fortalecen la compatibilidad entre la ética y la calidad metodológica (39).

## **2.4. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos**

### **2.4.1. Recolección y tratamiento de la muestra vegetal**

La especie vegetal *Vasconcellea Candicans* (A.gray) “Kerco” fue recolectada en el distrito de Santiago de Quirahuará (2 801 m de altitud y latitud Sur 14° 3' 22") provincia de Huaytará Departamento de Huancavelica en el mes de febrero. Este proceso se realizó a tempranas horas de la mañana, seleccionando hojas en perfecto estado, se utilizó tijeras de podar y bolsas de papel Kraft. Luego, las muestras recolectadas fueron trasladadas al laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga.

Adicionalmente, se escogió una muestra representativa de la especie vegetal para ser enviada al Museo de Historia Natural de la UNMSM, con el fin de realizar su respectiva clasificación taxonómica. (Ver anexo)

### **2.4.2. Tratamiento de la muestra**

**Selección:**

Una vez concluida la recolección, se procedió a seleccionar cuidadosamente la especie vegetal, descartando aquellas partes como tallos y hojas que presentaban cambios de color, manchas o signos de contaminación. Solo se conservaron las muestras en óptimas condiciones, las cuales fueron colocadas en papel Kraft para prevenir su deterioro.

**Limpieza:**

La muestra vegetal fue lavada con agua destilada con el propósito de eliminar residuos de tierra, suciedad, grasa u otras sustancias indeseables, evitando así posibles interferencias o alteraciones en análisis posteriores.

**Secado:**

El secado se llevó a cabo de manera artesanal, en un ambiente sombreado, con el fin de preservar los componentes naturales de la planta. Las muestras fueron distribuidas sobre hojas de papel Kraft y se realizaron movimientos periódicos para asegurar un secado uniforme, proceso que se extendió por aproximadamente 15 días.

**Molienda:**

Luego del secado, los tallos y hojas fueron triturados en un molino artesanal, facilitando así su posterior procesamiento.

**Conservación:**

Finalmente, las muestras vegetales se almacenaron en bolsas de papel Kraft, garantizando su preservación hasta el momento del análisis.

**2.4.3. Obtención del extracto etanólico**

El proceso para obtener el extracto etanólico de las hojas de la especie *Vasconcellea candicans* (A. Gray), conocida como "Kerco", se inició con la extracción de los metabolitos secundarios mediante el método de maceración. Este procedimiento consistió en poner en contacto directo 1000 g de la muestra vegetal con 5.5 L de etanol al 96°, durante un periodo de 15 días. Finalizado este tiempo, la mezcla fue filtrada y el disolvente eliminado al vacío mediante un evaporador rotatorio, hasta obtener el extracto completamente seco. Dicho extracto fue almacenado en un frasco de vidrio ámbar para su análisis posterior.

**2.4.4. Tamizaje fitoquímico**

El tamizaje fitoquímico, también conocido como "screening" fitoquímico, constituye una de las fases iniciales en la investigación fitoquímica. En esta etapa se llevan a cabo reacciones de coloración y/o precipitación con el propósito de identificar o confirmar la presencia de metabolitos secundarios.

(40)

Para este análisis, se separó una porción designada como fracción “A”. El residuo restante fue tratado con una solución diluida de ácido clorhídrico al 1%, y posteriormente filtrado, generando dos fracciones: la parte insoluble fue lavada con agua destilada y se le añadieron 5 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ); luego se filtró y se secó, obteniéndose la fracción “B”.

La porción soluble en la solución ácida fue neutralizada con hidróxido de amonio y transferida a una pera de decantación. Allí se extrajo con diclorometano, obteniéndose dos fases: la fase diclorometánica (fracción “C”) y la fase acuosa. Esta última fue saturada con sulfato de sodio anhidro y posteriormente extraída con una mezcla diclorometano-etanol en proporción 3:2, lo que permitió obtener la fracción diclorometano-etanólica (fracción “D”) y una fase acuosa remanente (fracción “E”).

Al finalizar el procedimiento, todas las fracciones fueron secadas para luego proceder con las reacciones específicas de identificación de metabolitos secundarios en cada una.

#### **2.4.4.1. Reacciones de identificación**

##### **a) Fracción A**

##### **Detección de taninos**

Reacción de Gelatina-sal: Se utilizaron tres tubos de ensayo, en cada uno de los cuales se colocaron 0,5 mL de la fracción A previamente disuelta en agua y filtrada. Luego, se procedió con los siguientes pasos:

- Al primer tubo se le añadió 1 mL de una solución de NaCl al 5%.
- Al segundo tubo se le incorporaron 20 gotas de una solución de gelatina al 1%.
- Al tercer tubo se le agregaron 0,5 mL de solución de NaCl al 5% y 10 gotas de solución de gelatina al 1%.

La formación de un precipitado en los tubos 1 y 2 se considera un resultado positivo para la presencia de taninos. Si el precipitado se forma solo en uno de ellos, existe la posibilidad de que se trate de un falso positivo.

##### **Detección de grupos fenólicos libres**

Reacción del Cloruro Férrico:

En un tubo de ensayo se añadieron 0,5 mL del extracto disuelto en etanol junto con unas gotas de una solución acuosa de cloruro férrico al 1%. La presencia de grupos fenólicos se confirma si se observa una coloración azul-negra o azul verdosa.

#### **Detección de aminoácidos (aminos libres)**

Reacción con Ninhidrina: Se utilizaron dos tiras de papel de filtro. A una de ellas se le aplicó una gota de la Fracción A junto con una gota de reactivo de ninhidrina al 2%, mientras que la otra (control blanco) recibió solo una gota de la solución etanólica de ninhidrina al 2%. Las tiras se dejaron secar a temperatura ambiente. El desarrollo de una coloración azul violácea indica una reacción positiva.

#### **Detección de flavonoides**

Reacción de Shinoda:

En una placa de vidrio se colocaron 3 gotas de la Fracción A, se añadieron limaduras de magnesio (aproximadamente 5) y de 2 a 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La aparición de una coloración anaranjada a roja señala una prueba positiva.

### **b) Fracción B**

#### **Detección de triterpenoides y/o esteroides**

Reacción de Liebermann-Burchard:

Se disolvió 1 mL de la fracción B en diclorometano y se le añadieron 1 mL de ácido acético y 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un color azul verdoso indica un resultado positivo.

#### **Detección de antraquinonas**

Reacción de Borntrager:

La fracción B se disolvió en diclorometano y se le adicionaron 3 mL de una solución de NaOH al 5%. Si la fase acuosa adquiere una coloración rojiza, la prueba se considera positiva.

### **c) Fracción C**

#### **Detección de triterpenoides y/o esteroides**

Reacción de Liebermann-Burchard:

Se procedió del mismo modo que en la fracción B.

#### **Detección de alcaloides**

Se utilizó el resto de la Fracción C, al cual se le agregaron 2 mL de HCl al 1%. Luego se realizaron las pruebas con los reactivos de Dragendorff, Mayer y

Wagner. La formación de precipitados anaranjados, cremosos o marrones indica un resultado positivo para alcaloides.

#### **d) Fracción D**

##### **Detección de flavonoides**

Reacción de Shinoda:

Se siguió el mismo procedimiento que en la fracción A.

##### **Detección de leucoantocianidinas y catequinas**

Reacción de Rosenheim:

Se colocaron 2 mL de la fracción D en un tubo de ensayo, se añadieron 1 mL de HCl concentrado y se calentó la mezcla a 100 °C durante 10 minutos. Luego se dejó enfriar y se agregaron 2 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico.

- Un color rosado a carmesí indica presencia de leucoantocianidinas.
- Un color rojo señala antocianidinas.
- Un color marrón sugiere la presencia de catequinas.

##### **Detección de esteroides y/o triterpenoides**

Reacción de Liebermann-Burchard:

Se aplicó el mismo procedimiento que en la fracción B.

##### **Detección de alcaloides**

Reacciones de Dragendorff, Mayer y Wagner:

Se procedió como en la fracción C. La aparición de los precipitados característicos indica una prueba positiva.

#### **e) Fracción E**

##### **Detección de flavonoides**

Reacción de Shinoda:

Se utilizó el mismo método aplicado en la fracción A.

##### **Detección de leucoantocianidinas**

Reacción de Rosenheim:

Se repitió el procedimiento empleado en la fracción D.

## **2.5. Estudio Farmacológico**

### **2.5.1. Material biológico**

Se utilizaron 50 ratones macho albinos cepa Balb/C/CNPB, procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Sede Chorrillos), estos fueron

distribuidos al azar en cinco grupos de cuatro ratones cada uno, con un peso corporal de 20-25g.

Una semana previa a los experimentos, los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación, con libre acceso a agua y alimento; y con ciclos de 12 horas de luz/oscuridad. Un día antes de la prueba se mantuvieron en ayuno con agua a libre acceso y media hora antes de la experimentación se agruparon aleatoriamente a los ratones.



**Figura 2:** Ratón albino cepa Bal/c

### 2.5.2. Actividad analgésica por el método del Plato caliente (Hot plate)

**Tabla 2.** Diseño de los grupos experimentales en el método del Plato caliente (Hot plate).

GRUPO	TRATAMIENTO	N°	DOSIS
I	Tween 2%	4	1mL/ 100 g
II	Tramadol	4	50 mg/kg
III	Extracto VC	4	250 mg/kg

IV	Extracto VC	4	500 mg/kg
V	Extracto VC	4	750 mg/kg

\*Nota: VC (*Vasconcellea candicans*)

En primer lugar, se registraron los tiempos de reacción basal de cada grupo experimental sometidos a la placa caliente, entendido como el tiempo en segundos que transcurre hasta que el animal manifiesta una respuesta nociceptiva (lamido de patas posteriores o salto). Para la administración intraperitoneal del extracto etanólico de *Vasconcellea candicans*, éste fue previamente solubilizado utilizando una solución de Tween 80 al 2% (v/v) en solución salina. El Tween 80 es un agente tensioactivo no iónico ampliamente empleado como vehículo en estudios farmacológicos y toxicológicos debido a su capacidad para emulsificar compuestos hidrofóbicos, como los presentes en extractos vegetales, mejorando así su biodisponibilidad y permitiendo una administración uniforme (41).

Transcurridos 30 minutos desde la administración intraperitoneal, los animales fueron expuestos al estímulo térmico, colocándolos individualmente sobre el plato caliente a una temperatura constante de  $56 \pm 1$  °C. Finalmente, se registró el tiempo de reacción posterior a la administración del tratamiento, considerando un tiempo máximo de corte de 30 segundos para evitar daño tisular.

Se determinó el porcentaje de analgesia calculando la media de los tiempos de reacción basal de los ratones como también el tiempo de reacción final después de aplicado el tratamiento y fármaco estándar, mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ analgesia} = \frac{\text{PROMEDIO (TRt)} - \text{PROMEDIO (TRb)}}{\text{PROMEDIO (TRb)}} \times 100$$

Siendo:

PROMEDIO (TRt) = Tiempo de reacción (lamidas o saltos) en los grupos tratados con extracto o fármaco a los 30 minutos.

PROMEDIO (TRb) = Tiempo de reacción basal

### 2.5.3. Actividad analgésica por el método inducción de contorsiones por ácido acético

El método inducción de contorsiones por ácido acético (30), es un modelo experimental para evaluar el efecto analgésico de extractos vegetales en ratones sometidos a un estímulo químico.

**Tabla 3.** Diseño de los grupos experimentales en el método inducción de contorsiones por ácido acético

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº	DOSIS
I	Tween 2%	4	1mL/100g
II	AAS	4	50 mg/kg
III	EXTRACTO VC	4	250 mg/kg
IV	EXTRACTO VC	4	500 mg/kg
V	EXTRACTO VC	4	750 mg/kg

\*Nota: AAS (Ácido acetilsalicílico), VC (*Vasconcellea candicans*)

Se administraron los tratamientos por vía intraperitoneal. Después de 30 minutos se inyectó en todos los animales, por vía intraperitoneal, ácido acético 0.5% diluido en solución salina (0,1 mL/10g). se aisló a cada animal de manera individual para observar el número de retorcimientos, contorsiones abdominales (rotación pélvica seguida de estiramientos de ambas patas traseras) que realiza el animal durante 20 minutos. Se obtiene la media aritmética para cada grupo determinando el porcentaje de inhibición. Para ello se calcula la diferencia entre el número de contorsiones abdominales obtenido con el grupo que recibe ácido acético y el vehículo (valor 100) con los grupos que recibieron los tratamientos, se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(cc) - (ct)}{(cc)} \times 100$$

Siendo:

(cc) = Media de las contorciones del Grupo control.

(ct) = Media de las contorciones del Grupo tratado.

## 2.6. Técnicas de procesamiento de la información:

Los datos obtenidos han sido procesados en el software Microsoft Excel (versión Office 365). Los resultados obtenidos de los dos métodos experimentales son expresados como media  $\pm$  D.E.

Para determinar la significancia estadística de las diferencias entre los grupos experimentales, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, asumiendo un nivel de confianza del 95 % ( $p < 0.05$ ). Este análisis permitió evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos comparados. Posteriormente, se aplicaron pruebas post hoc específicas, como el test de Tukey para comparaciones múltiples entre todos los grupos, y el test de Dunnett para comparar cada grupo experimental con el grupo control, con el fin de identificar de manera más precisa dónde se presentaban las diferencias significativas.

## 2.7. Aspectos éticos:

Se ha considerado como referencia la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. (Guide for the care and use of laboratory animals) (42), la cual establece principios éticos sobre el cuidado y utilización de animales con fines científicos de manera técnica y humanamente oportuna. Las instalaciones destinadas para el alojamiento de los animales contaban con un espacio apropiado. Se realizó la limpieza regular de las jaulas y el reemplazo periódico de la viruta para mantener condiciones higiénicas óptimas. El alimento y el agua fue proporcionado ad libitum. Se respetaron los lineamientos establecidos en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Consejo Internacional de Organizaciones de las Ciencias Médicas (CIOMS), en colaboración con la OMS (2023), y las recomendaciones de la International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) (43).

Asimismo, se adoptaron los principios de las **3R**:

- **Reducción:** Se utilizó el número mínimo necesario de animales por grupo experimental ( $n = 4$ ), con base en diseños estadísticos aceptados.

- **Reemplazo:** Aunque no fue posible reemplazar el modelo animal, se evaluó que el uso de modelos alternativos no ofrecía la misma validez para la evaluación nociceptiva in vivo.
- **Refinamiento:** Se aplicaron técnicas que minimizan el sufrimiento y estrés, como el uso de anestesia cuando fue necesario, manipulación cuidadosa, y establecimiento de puntos finales humanitarios.

El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por el comité de ética para la investigación en animales de laboratorio de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga según Resolución N.º 384-D/FFB-UNICA-2024).

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Resultados de tamizaje fitoquímico:

**Tabla 4.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans*

(A.gray) “Kerco”

FRACCIÓN	DETECCIÓN	MÉTODO	RESULTADO
A	Taninos	Rx. Gelatina-Sal	-
	Grupos fenólicos libres	Rx. Cloruro	
		Férrico	+
	Aminoácidos	Rx. De	+
		Ninhidrina	
Flavonoides	Rx. De Shinoda	+	
B	Esteroides y/o triterpenoides	Rx.	
		Lieberman	+
		Burchard	
Antraquinonas	Rx. De	-	
	Borntrager		
C	Alcaloides	Rx. Dragendorff	+
		Rx. Mayer	+
		Rx. Wagner	+
	Esteroides y/o triterpenoides	Rx. Lieberman	+
		Burchard	

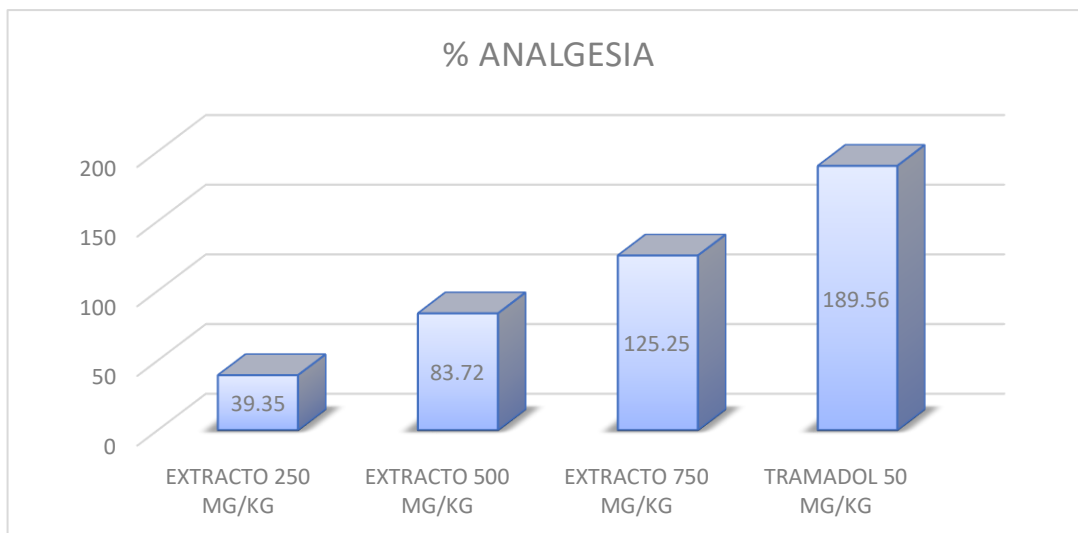
D	Leucoantocianidinas y catequinas	Rx. De Rosenheim	+
	Esteroides y/o triterpenoides	Rx. Lieberman Burchard	+
	Flavonoides	Rx. De Shinoda	+
	Alcaloides	Rx. Dragendorff	+
		Rx. Mayer	+
		Rx. Wagner	+
E	Flavonoides	Rx. De Shinoda	+
	Leucoantocianidinas y catequinas	Rx. De Rosenheim	+
F	Saponinas	Prueba de espuma	+

Nota: el signo (+) indica reacción positiva, signo (-) indica reacción negativa

### 3.2. Resultados de la actividad analgésica

**Tabla 5.** Actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas *Vasconcellea candicans* (A.gray) “kerco” por el método del Plato caliente (Hot plate)

TRATAMIENTO	PROMEDIOS TR (seg)		UMBRAL DE DOLOR	% ANALGESIA
	BASAL	FINAL		
<b>EXTRACTO 250 mg/kg</b>	7.09	9.88	2.79	39.35
<b>EXTRACTO 500 mg/kg</b>	6.39	11.74	5.35	83.72
<b>EXTRACTO 750 MG/KG</b>	5.07	11.42	6.35	125.25
<b>TRAMADOL 50 mg/kg</b>	5.27	15.26	9.99	189.56



**Figura 3:** Comparación del efecto analgésico por el método del Plato caliente (Hot plate) con los diferentes tratamientos.

- La dosis de 750 mg/kg presentó un porcentaje de analgesia de 125.25% mientras que el control positivo (tramadol) presentó un porcentaje de analgesia de 189.56%.

**Tabla 6 .** Análisis de varianza (ANOVA) entre los grupos de tratamiento

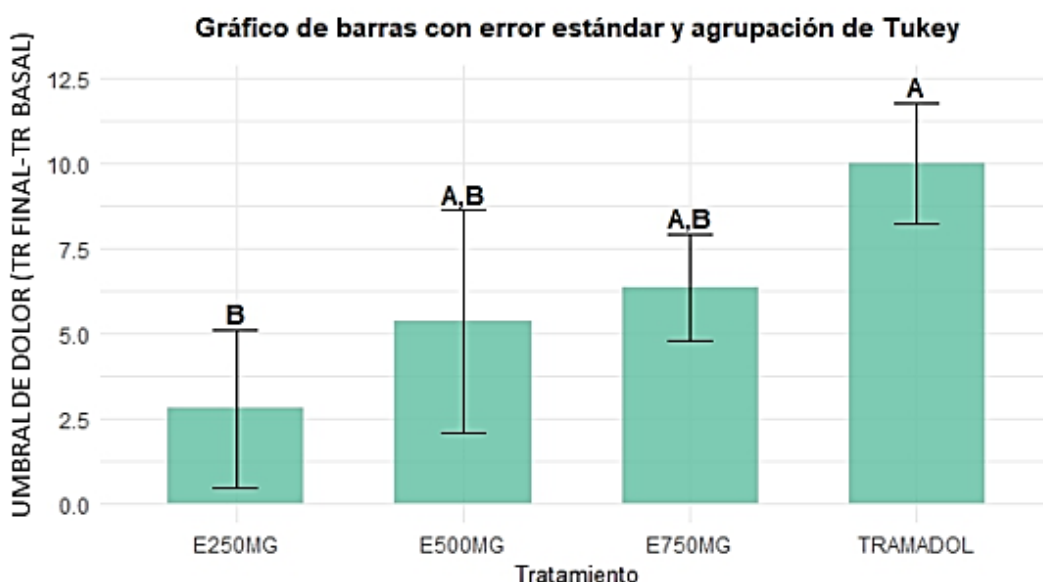
Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
<b>GRUPO</b>	3	107.16	35.72	6.63	0.007
<b>Error</b>	12	64.69	5.39		
<b>Total</b>	15	171.84			

**Tabla 7.** Medias del umbral de dolor por grupo de tratamiento con intervalos de confianza (95%)

GRUPO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
<b>E250mg/kg</b>	4	2.78	2.32	(0.25; 5.31)
<b>E500mg/kg</b>	4	5.35	3.26	(2.82; 7.88)
<b>E750mg/kg</b>	4	6.35	1.55	(3.824; 8.883)
<b>TRAMADOL</b>	4	9.99	1.77	(7.464; 12.523)

**Tabla 8** . Comparaciones múltiples de Tukey (95% IC): agrupación de tratamientos según media del umbral de dolor

GRUPO	N	Media	Agrupación
E250mg/kg	4	2.78	B
E500mg/kg	4	5.35	A B
E750mg/kg	4	6.35	A B
TRAMADOL	4	9.99	A



**Figura 4:** Gráfico de comparaciones múltiples de Tukey

**Tabla 9** . Comparaciones múltiples de Dunnett (95% IC): agrupación de tratamientos según media del umbral de dolor

GRUPO	N	Media	Agrupación
TRAMADOL (C+)	4	9.994	A
E750mg/kg	4	6.354	A
E500mg/kg	4	5.35	
E250mg/kg	4	2.78	

Se compararon los tres tratamientos de extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* frente al control positivo (tramadol) utilizando la prueba de Tukey y Dunnett. Por el método de Tukey se determinó que existe una diferencia significativa entre extracto etanólico de 250 mg/kg y el tramadol; por otro lado, los resultados del método de Dunnett indicaron que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento de 750 mg/kg y el tramadol.

### 3.3. Resultados de la actividad analgésica por el método de contorsiones por ácido acético

**Tabla 10.** Media del número de contorsiones de los grupos experimentales

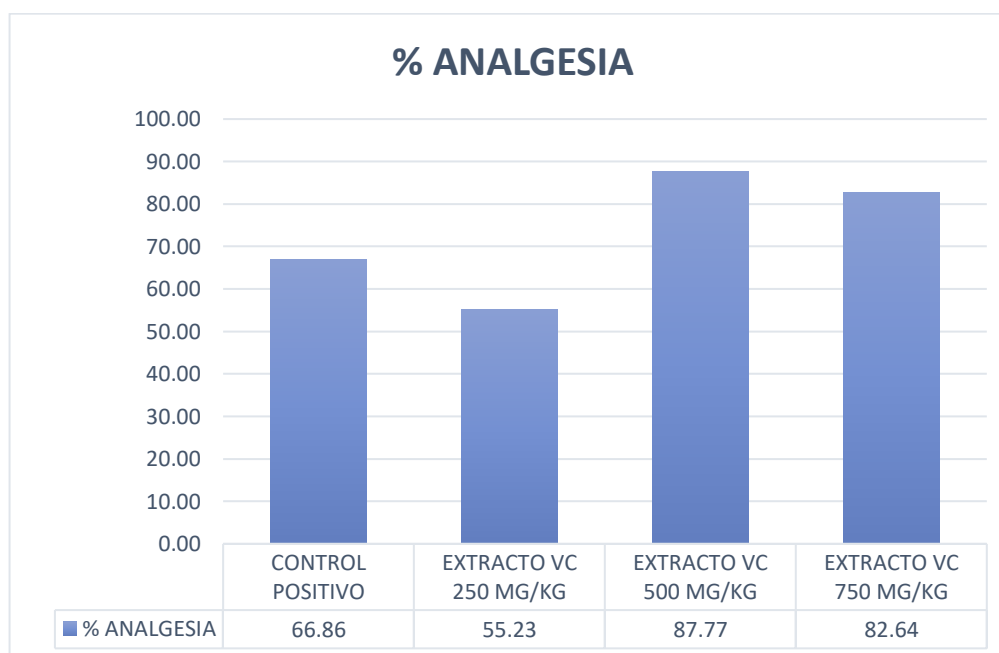
N <sup>a</sup>	TRATAMIENTO	MEDIA ± DE
1	TWEEN 2%	126.75 ± 10.99
2	AAS	42 ± 5.16
3	EXTRACTO VC 250 mg/kg	56.75 ± 5.74
4	EXTRACTO VC 500 mg/kg	15.5 ± 1.91
5	EXTRACTO VC 750 mg/kg	22 ± 4.32

\*Nota: AAS (Ácido acetilsalicílico), VC (*Vasconcellea candidans*)

**Tabla 11.** Porcentaje de analgesia de los grupos experimentales

GRUPO EXPERIMENTAL	% ANALGESIA
TWEEN 2%	
AAS	66.86
EXTRACTO VC 250 mg/kg	55.23
EXTRACTO VC 500 mg/kg	87.77
EXTRACTO VC 750 mg/kg	82.64

\*Nota: AAS (Ácido acetilsalicílico), VC (*Vasconcellea candidans*)



**Figura 5:** Comparación del efecto analgésico por el método de inducción de contorsiones por ácido acético (0.5%) con los diferentes tratamientos

El extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A.gray) demuestra actividad analgésica dosis-dependiente, con un incremento del efecto al aumentar la concentración desde 250 mg/kg hasta 500 mg/kg.

**Tabla 12.** ANOVA Factorial: Efecto del tratamiento, tipo de contorsiones y su interacción sobre la variable de respuesta

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
<b>TRATAMIENTO</b>	4	120.640	0.000
<b>TIPO_CONTORSIONES</b>	3	116.160	0.000
<b>TRATAMIENTO* TIPO_CONTORSIONES</b>	12	19.250	0.000
<b>Error</b>	60		
<b>Total</b>	<b>79</b>		

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante un modelo lineal general para evaluar el efecto de diferentes tratamientos y tipos de contorsiones sobre el número de respuestas observadas. El efecto del tratamiento fue estadísticamente significativo ( $p < 0.001$ ), lo que indica que al menos uno de los tratamientos genera un cambio significativo en el conteo de contorsiones.

Existe una interacción significativa entre tratamiento y tipo de contorsión ( $p < 0.001$ ), lo que implica que el efecto de un tipo de contorsión depende del tratamiento específico

Efecto significativo del tipo de contorsiones ya que el valor p también es 0.000, lo que indica que el tipo de contorsión influye significativamente en la variable de respuesta.

**Tabla 13.** Estimación de coeficientes del modelo lineal: Efectos principales e interacciones entre tratamiento y tipo de contorsiones

<b>Coefficientes</b>				
<b>Término</b>	<b>Coef</b>	<b>EE del coef.</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor p</b>
<b>Constante</b>	13.21	0.45	29.30	0.00
<b>TRATAMIENTO</b>				
<b>C-</b>	18.48	0.90	20.48	0.00
<b>C+</b>	-2.71	0.90	-3.01	0.00
<b>E250 mg/kg</b>	-9.09	0.90	-10.08	0.00
<b>E500 mg/kg</b>	0.98	0.90	1.08	0.28
<b>TIPO_CONTORSIONES</b>				
<b>A</b>	-6.51	0.78	-8.34	0.00
<b>B</b>	0.69	0.78	0.88	0.38
<b>C</b>	-7.66	0.78	-9.81	0.00
<b>TRATAMIENTO*TIPO_CONTORSIONES</b>				
<b>C- *A</b>	-7.92	1.56	-5.07	0.00
<b>C- *B</b>	19.12	1.56	12.24	0.00
<b>C- *C</b>	-8.28	1.56	-5.30	0.00
<b>C+ *A</b>	-0.24	1.56	-0.15	0.88
<b>C+ *B</b>	-6.44	1.56	-4.12	0.00
<b>C+ *C</b>	1.16	1.56	0.74	0.46
<b>E250 *A</b>	5.14	1.56	3.29	0.00
<b>E250 *B</b>	-2.31	1.56	-1.48	0.14
<b>E250 *C</b>	5.29	1.56	3.38	0.00
<b>E500 *A</b>	-1.68	1.56	-1.07	0.29
<b>E500 *B</b>	-6.12	1.56	-3.92	0.00
<b>E500 *C</b>	-2.52	1.56	-1.62	0.11

Nota: C- (control negativo), C+(control negativo), E250 (extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* a 250 mg/kg), E500 (extracto de *Vasconcellea candicans* a 500 mg/kg), E750 (extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* a 750 mg)

Se tomó como referencia al tratamiento del extracto etanólico a 750mg/kg y los valores de  $p < 0.001$ ; de este modo se demuestra que el C-, C+ y E250 son significativamente diferentes al E750MG, sin embargo, el tratamiento E500MG no es significativamente diferente.

Realizando un análisis de acuerdo al tipo de contorsión, se tomó como referencia el tipo D. El tipo de contorsión A y C son mucho menos frecuentes que el D; así como el tipo de contorsión B no difiere significativamente con el D.

La interacción entre tratamiento y tipo de contorsión fue estadísticamente significativa, lo que indica que el efecto de los tratamientos no es uniforme para todos los tipos de

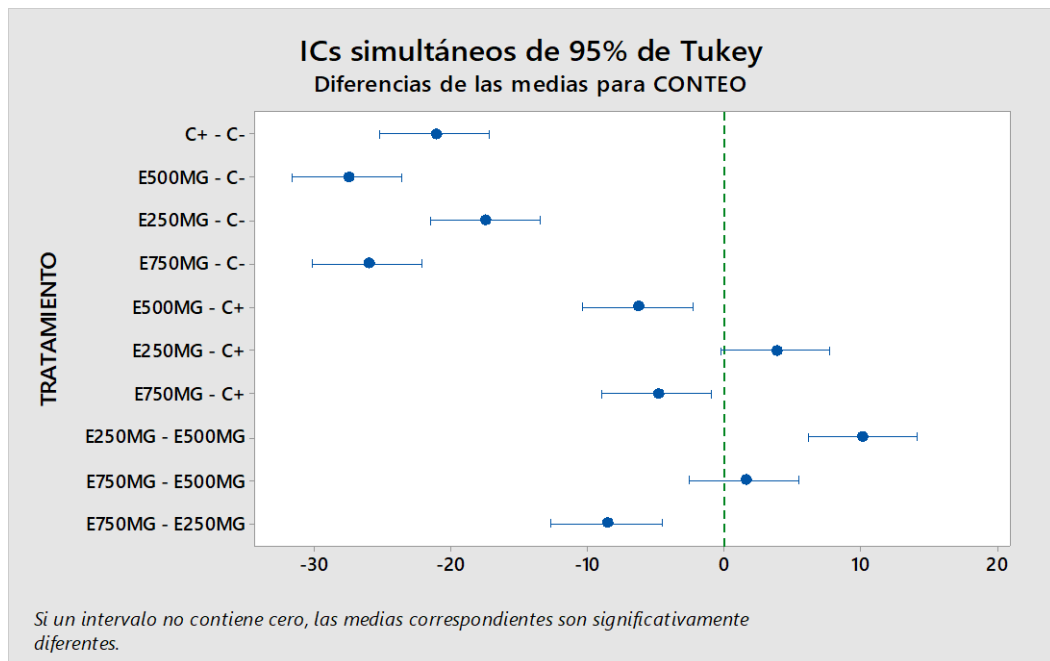
contorsión. Es decir, cada tratamiento afecta de manera diferente a los distintos tipos de contorsiones (A, B, C, D).

**Tabla 14.** Agrupación de tratamientos utilizando el método de Tukey con una confianza al 95%

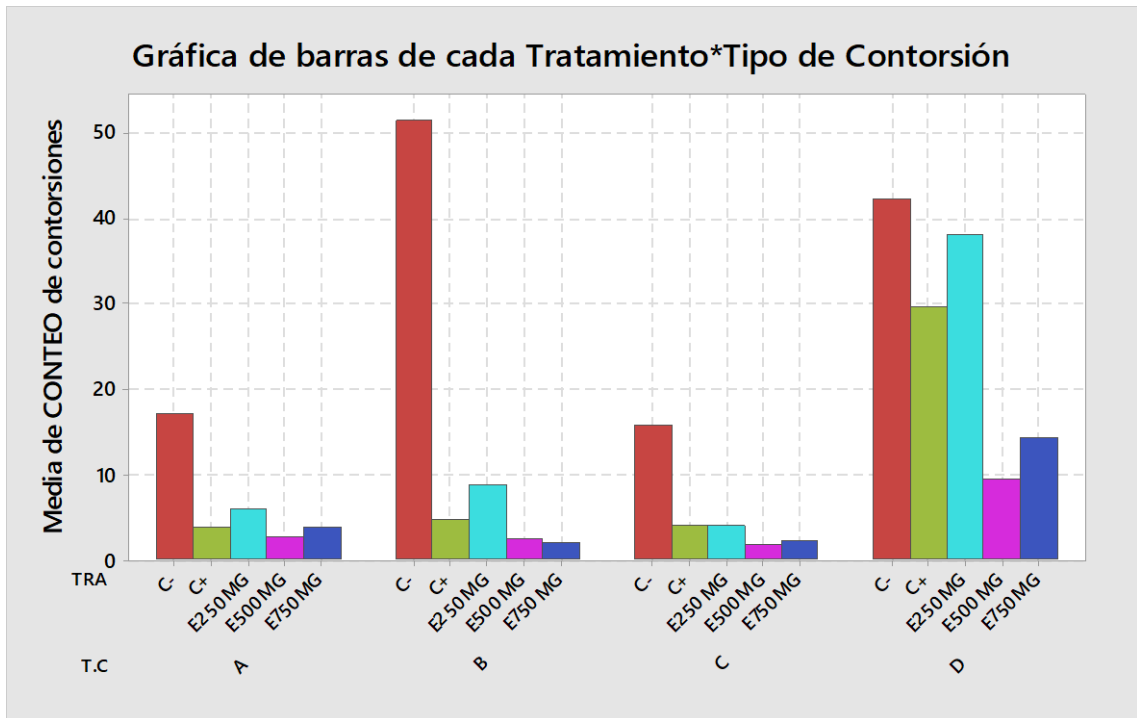
TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
C-	4	31.69	A
E250MG	4	14.19	B
C+	4	10.50	B
E750MG	4	5.56	C
E500MG	4	4.13	C

\*Nota: C- (control negativo), C+ (control positivo), E250 (extracto de *Vasconcellea candicans* a 250 mg/kg), E500 (extracto de *vasconcellea candicans* a 500 mg/kg), E750 (extracto de *vasconcellea candicans* a 750 mg/kg)

Los grupos que no comparten letras son significativamente diferentes.



**Figura 6:** Comparaciones múltiples de Tukey al 95% para el conteo de contorsiones entre tratamientos



**Figura 7:** Comparación de la media del conteo de contorsiones por tratamiento y tipo de contorsión

#### IV. DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos del estudio preliminar de tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A. Gray), conocido comúnmente como “Kerco”, permitió demostrar una diversidad de metabolitos secundarios con potenciales propiedades farmacológicas. Entre los compuestos detectados se encontraron: alcaloides, conocidos por su acción analgésica y antimicrobiana; flavonoides, grupos amino libres y grupos fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, antraquinonas, leucoantocianidinas, y saponinas. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado en el fruto de la especie *Vasconcellea candicans*, donde se ha reportado la presencia de dichos metabolitos y su relación con actividades farmacológicas (10).

La evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) por el método de hot plate en ratones albinos machos demostró una efectividad no superior al control positivo (tramadol) usando una concentración de extracto a 750mg/kg.

Los resultados indican que el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A.gray) produjo un incremento significativo en el tiempo de latencia de respuesta al estímulo térmico en el método de hot plate, lo que demuestra una posible actividad analgésica de tipo central, posiblemente mediada por la activación de receptores opioides.

El modelo de plato caliente es un modelo experimental sensible y específico para analgésicos potentes de acción central, mientras que los analgésicos que actúan periféricamente son inactivos. Esta prueba de nocicepción es principalmente un reflejo espinal, que se cree que implica el procesamiento nociceptivo supraespinal. En la región espinal, los ligandos de cada uno de los tres receptores opioides clásicos ( $\mu$ ,  $\kappa$  y  $\delta$ ) pueden producir un efecto analgésico, al reducir la liberación de neurotransmisores de las terminaciones de las fibras aferentes primarias de la asta dorsal de la médula espinal y/o por una inhibición postsináptica directa de neuronas cerebrales que se activan por estimulación nociva.

El modelo de contorsiones inducidas por ácido acético, utilizado para evaluar el efecto analgésico a nivel periférico, demostró que el extracto etanólico posee una actividad significativa y dosis-dependiente. A una dosis de 500 mg/kg, se observó una reducción del número de contorsiones mayor que la observada en el grupo tratado con ácido

acetilsalicílico (AAS), que actuó como control positivo. Este resultado indica que el extracto posee una potente acción analgésica periférica, posiblemente relacionada con la inhibición de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas. La eficacia del extracto en este modelo sugiere que su mayor potencial terapéutico se encuentra en la modulación del dolor de origen periférico.

No hay estudios relacionados a la evaluación de la actividad analgésica con estos métodos en dicha especie, pero si investigaciones similares con extractos vegetales que demuestran una actividad analgésica moderada utilizando estos métodos dándole mayor relevancia (6,7).

La administración intraperitoneal de sustancias (ácido acético) que irritan la membrana serosa provoca un comportamiento predecible debido a la inflamación de las vísceras en los ratones y se manifiesta con contracciones abdominales y movimientos de todo el cuerpo (especialmente de las patas traseras), que incluyen torsión de los músculos dorso-abdominales, reducción de la actividad motora e incoordinación motora.

La administración de ácido acético en la cavidad peritoneal podría conducir un incremento de los niveles de COX (ciclooxigenasa) y LOX (lipooxigenasa) e indirectamente conduce a la liberación de mediadores nociceptivos endógenos, tales como PGE2, PGF2a, 5HT, sustancia P, citocinas y productos de la LOX. Se conoce el papel de estos mediadores en el proceso de nocicepción, que en última instancia estimulan las fibras aferentes primarias y contribuyen al desarrollo del dolor (44).

Para este modelo se utilizó una concentración de ácido acético (0.5%) menor a la común, ya que el objetivo fue observar los diferentes tipos de contorsiones en los ratones y establecer una relación significativa con los tratamientos.

Los resultados de la relación estadísticamente significativa entre el tratamiento y el tipo de contorsión demuestran que el impacto de los tratamientos no es homogéneo para todos los tipos de contorsión. Es decir, cada tratamiento influye de forma distinta en los diferentes tipos de contorsiones (A, B, C, D).

Como se comprueba, la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) puede ser utilizada para aliviar el dolor ya que posee una gran efectividad antinociceptiva y respalda en gran valor científico al uso popular que le dan los pobladores en el distrito de Santiago de Quirahuará departamento de Huancavelica.

Por ello es importante continuar con estudios complementarios que ayuden a definir el mecanismo de acción del efecto analgésico de la especie *vasconcella candicans* (A.gray).

## V. CONCLUSIONES

- 1 El extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A. Gray), presentó diversos metabolitos secundarios, entre los que se identificaron: alcaloides, flavonoides, grupos amino libres, compuestos fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, antraquinonas, leucoantocianidinas y saponinas.
- 2 En el ensayo de placa caliente (Hot Plate), el extracto etanólico de *V. candicans* evidenció un efecto analgésico central a una dosis de 750 mg/kg, aunque su eficacia fue considerablemente menor en comparación con el control positivo (tramadol).
- 3 El modelo de inducción de contorsiones con ácido acético al 0.5%, el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (500 mg/kg) mostró un efecto analgésico periférico superior al del control positivo (ácido acetilsalicílico).
- 4 El extracto etanólico de *vasconcellea candicans* (A.gray) presenta actividad analgésica periférica.

## VI. RECOMENDACIONES

- Aislar, caracterizar químicamente y cuantificar los compuestos bioactivos presentes en el extracto etanólico de *Vasconcellea candicans* (A. Gray), para identificar los metabolitos responsables del efecto analgésico observado.
- Se recomienda explorar nuevas extracciones considerando el uso de otras partes de la planta (como tallos o flores) de *Vasconcellea candicans*, con el objetivo de determinar si dichas fracciones presentan actividad analgésica comparable o superior a la observada en el extracto etanólico de la parte originalmente evaluada.
- Se sugiere realizar pruebas complementarias que permitan estudiar más a fondo el proceso de inhibición del dolor, utilizando modelos experimentales alternativos que ayuden a elucidar las vías fisiológicas y moleculares implicadas en la acción analgésica del extracto.
- Finalmente, se considera esencial llevar a cabo un estudio de toxicidad aguda y/o subcrónica del extracto a las dosis empleadas, con el fin de garantizar la seguridad y viabilidad de su uso en futuras investigaciones preclínicas o aplicaciones terapéuticas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Elena C. Fitoterapia (plantas medicinales) y su ventaja frente a los medicamentos sintéticos [Internet]. GRUPO THUBAN (FEMTCI); 2020 [citado 2025 mayo 21]. Disponible en: <https://grupothuban.com/fitoterapia-plantas-medicinales-y-su-ventaja-frente-a-los-medicamentossinteticos/#:~:text=Menos%20efectos%20secundarios%20que%20los,pero%20sin%20sus%20efectos%20secundarios.>
- 2 Cañigueral S, Vila R, Vanaclocha B. La Fitoterapia racional. Fitoterapia, Vademécum de Prescripción. 5ª ed. Barcelona: Elsevier; 2019. 830 p. ISBN: 978-84-9113-299-8.
- 3 Moreno Pérez G, Narváez Gonzáles H, Gonzáles Trujano M. Plantas medicinales para el alivio del dolor. CIENCIA. 2020;71(2):46-47. Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/71\\_2/PDF/10\\_71\\_2\\_1231\\_PlantasMedicinales-L.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/71_2/PDF/10_71_2_1231_PlantasMedicinales-L.pdf)
- 4 Benites-Meza JK, Pinedo-Castillo L, Cabanillas-Lazo M, Boyd-Gamarra MA, Herrera-Añazco P, Mougenot B, et al. Self-medication with NSAIDs and purchase of branded and over-the-counter medicines: analysis of a national survey in Peru. J Public Health Res. 2025;14(1):22799036251319154. doi:10.1177/22799036251319154. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40012913/>
- 5 Zahra N, Fatima S, Nazir A, Farrukh SY, Anwer A, Sarwar A, et al. In vivo and in silico analysis of anti-inflammatory, antipyretic and analgesic activity of methanolic extract of *Nigella sativa*. J Mol Histol. 2025;56(2):118. doi:10.1007/s10735-025-10118-2. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40126708/>
- 6 Ayanaw MA, Yesuf JS, Birru EM. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of methanolic leaf and root extracts of *Gomphocarpus purpurascens* A. Rich (Asclepiadaceae) in mice. J Exp Pharmacol. 2023;15:1–11. doi:10.2147/JEP.S361194. PMID: 36643970; PMCID: PMC9838122. Disponible en: [https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9838122/?utm\\_source=chatgpt.com](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9838122/?utm_source=chatgpt.com)
- 7 Jahan S, Nesa M, Hossain ME, Rajbangshi JC, Hossain MS. In vivo and in silico evaluation of analgesic and hypoglycemic activities of *Amaranthus blitum* L. S Afr J Bot. 2022;150:565-75. doi:10.1016/j.sajb.2022.07.044. Disponible en:

[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025462992200415X?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025462992200415X?utm_source=chatgpt.com)

- 8 Gutiérrez-Román AIF, Santa Cruz-Carpio CM, Velarde-Vilchez M, Nolasco-Cárdenas O. Capacidad antioxidante de la pulpa de *Vasconcellea candicans* “Mito”. *Biotempo*. 2023;20(2):151–162. doi:10.31381/biotempo.v20i2.5872. Disponible en: [https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/8637/PI2022\\_1544\\_CN\\_IF.pdf?isAllowed=y&sequence=1&utm\\_source=chatgpt.com](https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/8637/PI2022_1544_CN_IF.pdf?isAllowed=y&sequence=1&utm_source=chatgpt.com)
- 9 Donayre-Aguilar R. Capacidad antioxidante y antibacteriana de extractos crudos de hoja de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC 1864 “Mito” [Tesis]. Universidad Nacional Federico Villareal; 2022. Disponible en: <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6319>
- 10 Herrera-Calderon O, Chávez H, Iparraguirre-Meza M, Cóndor-Privat MH, Galdos-Vadillo BL, Mendoza-Vilcahuaman J, et al. Antioxidant and hypoglycemic effect of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC. in albino mice: a native fruit of the Peruvian flora. *Food Res*. 2022;6(4):373-379. DOI: 10.26656/fr.2017.6(4).665.
- 11 Weberbauer A. El mundo vegetal de los Andes peruanos. Lima (PE): Estación Experimental Agrícola de La Molina, Dirección de Agricultura, Ministerio de Agricultura; 1945.
- 12 Carvalho FA. e-Monograph of Caricaceae. Version 1, November 2013 [Internet]. 2013– [cited 2025 Sep 26]. Available from: <http://herbaria.plants.ox.ac.uk/bol/caricaceae>
- 13 Sagástegui A, Rodríguez E, Arroyo S. Plantas Promisorias: El Mito o Papaya Silvestre. *Innova Norte*. 2007;1(1):109-119.
- 14 Belli Obando V. Estudio etnobotánico y morfológico de "mito" *Vasconcellea candicans* con énfasis en plántulas [Tesis pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2018. Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/server/api/core/bitstreams/6f32a296-17d9-48d0-9fca-f97a22e31693/content>
- 15 Cabieses F. Apuntes de medicina tradicional: La racionalización de lo irracional. Lima: PE; 1993. 414 p.
- 16 Zuluaga G. El nuevo libro de las plantas para el cuidado de la salud. Bogotá: Círculo de lectores; 1996. 260 p.
- 17 Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas; 1999. 566 p.
- 18 De Feo V, De Simone F, Arias G, Senatore F. *Carica candicans* Gray (Mito), an alimentary resource from Peruvian flora. *J Agric Food Chem*. 1999;47:3682-3684.

- 19 Muñoz AM, Pareja B. Plantas medicinales empleadas en el tratamiento de la leishmaniasis. *Folia Dermatol Peru*. 2003;14(3):10-14.
- 20 Gutiérrez AIF, Nolasco O, Santa Cruz C. Purificación y caracterización preliminar de proteasas del látex de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito). *Scientia Agropecuaria*. 2017; 8(1),7-17. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172017000100001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172017000100001)
- 21 Espinosa-Soto I. Germinación, microinjertación y cultivo de callos in vitro de *Vasconcellea stipulata* V.M. Badillo y *Vasconcellea pubescens* A.DC [Tesis de maestría]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Ciencias Biológicas; 2016. Disponible en: repositorio SEDICI (CN: 10915/53339). Disponible en: [https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/53339/Documento\\_completo.pdfP\\_DFAU.pdf?sequence=3](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/53339/Documento_completo.pdfP_DFAU.pdf?sequence=3)
- 22 Leiva-González S, Gayoso Bazán G, Chang Chávez L. *Carica candicans* A. Gray (Caricaceae), una fruta utilizada en el Perú desde la época prehispánica. **Arnaldoa**. 2016;23(2):609–626. Disponible en: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/53099409#page/205/mode/1up>
- 23 Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. *Pain Suppl*. 1986;3:S1-226. PMID: 3461421. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3461421/>
- 24 Watson JC, Levin MC. Evaluación del dolor. En: Manual MSD versión para profesionales, sección Trastornos neurológicos — Dolor. Revisado/modificado marzo–septiembre 2022. Disponible en: Manual MSD. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/trastornos-neuro%C3%B3gicos/dolor/evaluaci%C3%B3n-del-dolor>
- 25 Watson JC. Generalidades sobre el dolor. En: Manual MSD versión para profesionales, sección Trastornos neurológicos — Dolor. Revisado/modificado marzo–septiembre 2022. Disponible en: Manual MSD. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/trastornos-neuro%C3%B3gicos/dolor/generalidades-sobre-el-dolor>
- 26 Rondero MÁG. Manejo del dolor por el médico de primer contacto. México: Editorial Alfil; 2024. 442 p. ISBN: 9786077415695. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Cek3EQAAQBAJ>
- 27 Dávila Cabo de Villa E, Morejón Hernández JM, Acosta Figueredo E. Dolor y analgésicos: algunas consideraciones oportunas. *Medisur* [Internet]. 2020 Ago [citado

- 2025 Sep 7];18(4):694-705. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2020000400694](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2020000400694)
- 28 Muchhala K, Jacob JC, Dewey WL, Akbarali HI. Role of  $\beta$ -arrestin-2 in short- and long-term opioid tolerance in the dorsal root ganglia. *Eur J Pharmacol.* 2021; 899:174007. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174007. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33705801/>
- 29 Botting, R: Vane's discovery of the mechanism of action of aspirin changed our understanding of its clinical pharmacology. *Pharmacol Rep.*2010; 62(3):518-25. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S173411401070308X#:~:text=rights%20and%20content-,Abstract,%2Dselective%20aspirin%2Dlike%20inhibitors.>
- 30 Rejón-Orantes, JC; Álvarez Perdomo, S; Crespo Ramírez, M; Pérez de la Mora, M. Un nuevo método de evaluación de la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético. *AMU.*2023;2(1):44-50.Doi: 10.31644/AMU.V02.N01.2023.A05
- 31 Modi AD, Parekh A, Pancholi YN. Evaluating pain behaviours: Widely used mechanical and thermal methods in rodents. *Behavioural Brain Research.* 2023;446:114417. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166432823001353>
- 32 Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica – CONCYTEC. *Investigación aplicada* [Internet]. Lima: CONCYTEC; [citado 2025 Sep 26]. Disponible en: <https://conocimiento.concytec.gob.pe/termino/investigacion-aplicada/>
- 33 Dulanto I. Niveles de investigación científica: Exploratorio, descriptivo, explicativo. *Rev Educ Cienc Salud.* 2018;15(2):9-12.
- 34 Erdoğan S. Determination of Sample Size Using Resource Equation Methods in Analysis of Variance Models in Animal Studies. *Dicle Univ Vet Fak Derg.* 2024;17(1):1-7. Disponible en: [https://dergipark.org.tr/en/pub/duvetfd/issue/85374/1308466?utm\\_source=chatgpt.com#article\\_cite](https://dergipark.org.tr/en/pub/duvetfd/issue/85374/1308466?utm_source=chatgpt.com#article_cite)
- 35 Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R. Sample size determination. *ILAR J.* 2002;43(4):207-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12391396/>
- 36 Persie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Br J Pharmacol.* 2020;177(16):3617-24. Disponible en: [https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15193?utm\\_source=chatgpt.com](https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15193?utm_source=chatgpt.com)
- 37 Ko MJ, Lim CY. General considerations for sample size estimation in animal study. *Korean J Anesthesiol.* 2021;74(1):23-9. Disponible en:

- [https://synapse.koreamed.org/articles/1156487?utm\\_source=chatgpt.com](https://synapse.koreamed.org/articles/1156487?utm_source=chatgpt.com)
- 38 Rinwa P, Eriksson M, Cotgreave I, Chen CL, Riggio M, Farhat W, et al. 3R-Refinement principles: elevating rodent well-being and research quality. *Lab Anim Res.* 2024;40:11. Disponible en: [https://labanimres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42826-024-00198-3?utm\\_source=chatgpt.com](https://labanimres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42826-024-00198-3?utm_source=chatgpt.com)
- 39 Eggel M, Würbel H. Internal consistency and compatibility of the 3Rs and 3Vs principles for project evaluation of animal research. *Lab Anim.* 2021;55(3):213-22. Disponible en: [https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0023677220968583?utm\\_source=chatgpt.com](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0023677220968583?utm_source=chatgpt.com)
- 40 Lock de Ugaz O. *Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos Naturales.* 2ª Edición, Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
- 41 Zhang, H., Yao, M., Morrison, R. A., & Chong, S. (2003). Commonly used surfactant, Tween 80, improves absorption of P-glycoprotein substrate, digoxin, in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 26(9), 768–772. <https://doi.org/10.1007/BF02976689>
- 42 National Research Council. *Guide for the care and use of laboratory animals.* Eighth ed. Washington DC: National Academy Press; 2011.
- 43 Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS). *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals.* Geneva: CIOMS; 2023. Disponible en: [https://cioms.ch/wp-content/uploads/2017/01/ResarchInvolvingAnimals.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://cioms.ch/wp-content/uploads/2017/01/ResarchInvolvingAnimals.pdf?utm_source=chatgpt.com)
- 44 Yam MF, Loh YC, Oo CW, Basir R. Overview of neurological mechanism of pain profile used for the study of “pain-like” behaviour in animals with proposed analgesic pathways. *Int J Mol Sci.* 2020;21(12):4355. Disponible en: [https://www.mdpi.com/1422-0067/21/12/4355?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.mdpi.com/1422-0067/21/12/4355?utm_source=chatgpt.com)

## VIII. ANEXOS

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título:** Tamizaje fitoquímico y actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Vasconcellea candicans* (A.gray) “Kerco”.

PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGIA	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p><b>PROBLEMA GENERAL</b></p> <p>a) ¿Presentará actividad analgésica el extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “kerco”, y qué metabolitos secundarios están presentes en ella?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <p>a) Evaluar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “kerco”.</p>	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Actividad analgésica por dos métodos:</p>		<p><b>Aplicada, descriptiva:</b> demostrará si el extracto etanólico de <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) presenta actividad analgésica</p>	<p><b>POBLACIÓN DE ESTUDIO</b></p> <p>Ratones albinos macho cepa Balb/c con una media peso de 20-25 g, serán comprados en el Centro Nacional de Productos Biológicos del Nacional Instituto de Salud (Chorrillos, Perú) y aclimatados por un periodo de 15 días.</p>

PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS				
<p>a) ¿Mostrará actividad analgésica el extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método del plato caliente (Hot plate)?</p> <p>b) ¿Tendrá actividad analgésica el extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “kerco” en ratones Balb/c por el método de inducción de contorsiones por ácido acético?</p>	<p>a) Evaluar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco” en ratones Balb/c por el método del plato caliente (Hot plate)</p> <p>b) Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco” en ratones Balb/c por el método de inducción de contorsiones por ácido acético.</p> <p>c) Identificar los posibles grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco”, mediante un tamizaje fitoquímico.</p>	<p>-Método del plato caliente (Hot plate)</p> <p>-Método de inducción de contorsiones por el ácido acético</p>	<p>Tiempo de permanencia máxima de los ratones.</p> <p>Número de las contorsiones abdominales</p> <p>Dosis del extracto etanólico de las hojas.</p>	<p><b>Experimental:</b> Utiliza una variable para controlar las demás variables</p>	<p><b>MUESTRA DE ESTUDIO</b></p> <p>Se utilizaron 40 ratones albinos macho Balb/c divididos por grupos aleatoriamente.</p>

<p>c) ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray)?</p>		<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Extracto etanólico de las hojas de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco”.</p>	<p>Metabolitos secundarios.</p>		
---	--	---	---------------------------------	--	--

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	INDICADORES	INDICES
<b>V. Independiente</b>		
Extracto etanólico de la especie <i>Vasconcellea candicans</i> (A.gray) “Kerco”	Metabolitos secundarios	Reacciones de coloración y precipitación
<b>V. Dependiente</b>		
<b>Actividad Analgésica</b>	Método del plato caliente (Hot plate)	Tiempo de reacción (seg) al estímulo térmico.
	Método inducción de contorsiones por ácido acético.	Número de contorsiones abdominales y relación al tipo de respuesta motora (A, B,C y D)



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



## CERTIFICADO

CEI-UNICA N°0009/05-2024

El que suscribe, certifica que:  
El Proyecto de Investigación titulado

**"Tamizaje Fitoquímico y actividad analgésica del extracto etanólico de la especie Vasconcellea candicans (A. gray) "kerco"**

De los autores:

**ESTUDIANTE:** BUSTAMANTE PAUCAR ANDREA JEANNETH  
**ASESORA:** DRA. CHÁVEZ ORELLANA SANTOS HAYDE  
MG. FERREYRA PAREDES CARMELA BETTY

Cumple con los procedimientos de manejo de seres humanos establecidos en el Reglamento del Comité de Ética para la investigación con seres humanos, animales y plantas de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", aprobado con R.R. N° 1305-R- UNICA-2020.

Se expide el presente a los 27 días mes de mayo de 2024

  
**DR. FELIPE ARTEMIO SURCO LAOS**  
Presidente  
Comité de Ética para la Investigación  
Universidad Nacional San Luis Gonzaga  
[felipe.surco@unica.edu.pe](mailto:felipe.surco@unica.edu.pe)

CÓDIGO: FAC. FAR. Y BIO  
VERSION:01  
FECHA: 027-05-2024



“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

### CONSTANCIA N° 019-USM-MHN-2024

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (estéril) recibida de **Andrea Jeanneth Bustamante Paucar**, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga ha sido estudiada y clasificada como: *Vasconcellea candicans* (A.Gray) A.DC. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Brassicales Bromhead

FAMILIA : Caricaceae Dumort.

GÉNERO : *Vasconcellea* A.St.-Hil.

ESPECIE : *Vasconcellea candicans* (A.Gray) A.DC.

Nombre vulgar: “Kerco”

Procedencia: Distrito de Santiago de Quirahuará, departamento de Huancavelica  
Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 07 de febrero de 2024

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS  
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N°

142- 2024

Producto : Ratón Albino  
Especie : Mus músculus  
:  
Cepa : Balb/c/CNPB  
Peso : 15 a 24 gr.

Lote N° : M – 40 - 2024  
Cantida : 40  
d  
Edad : 25 a 32 días  
Sexo : machos

Bolete de : 0004453  
venta

Destino : Bustamante Paucar, Andrea

Fecha : 03-10-2024

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias \*.

\* Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 04 de octubre del 2024

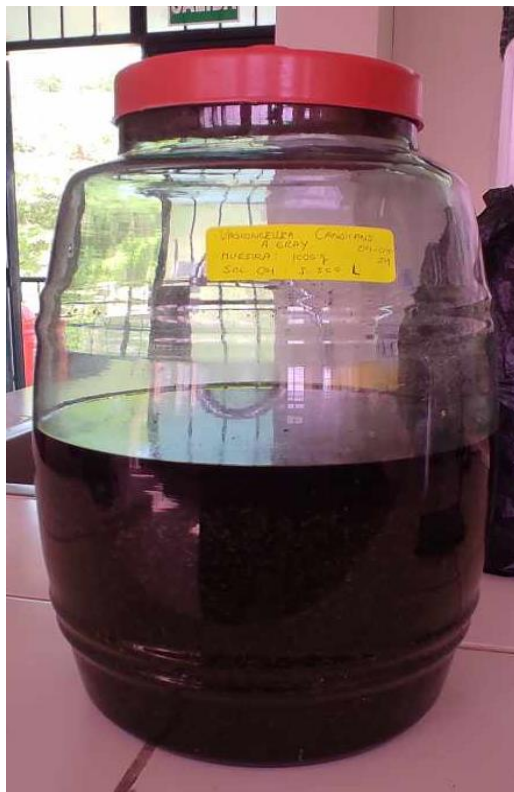
(Fecha de emisión del certificado)

M.V. Jorge Ruiz Alarcón.  
C.M.V.P. 5052

**NOTA:** El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

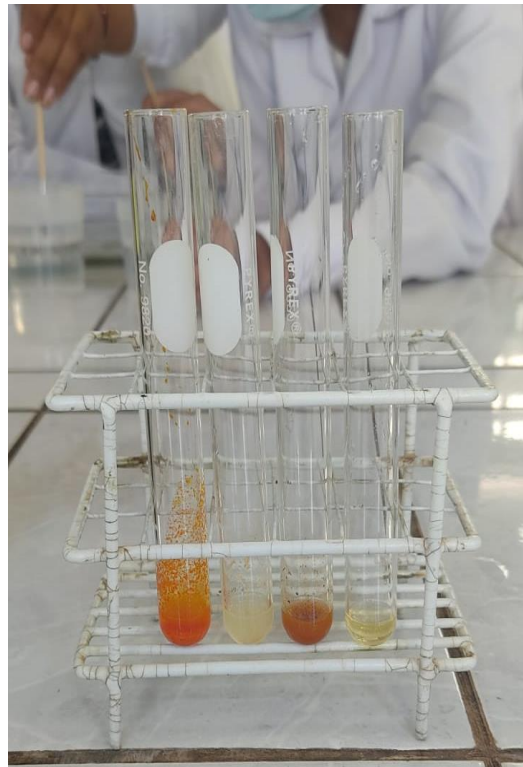
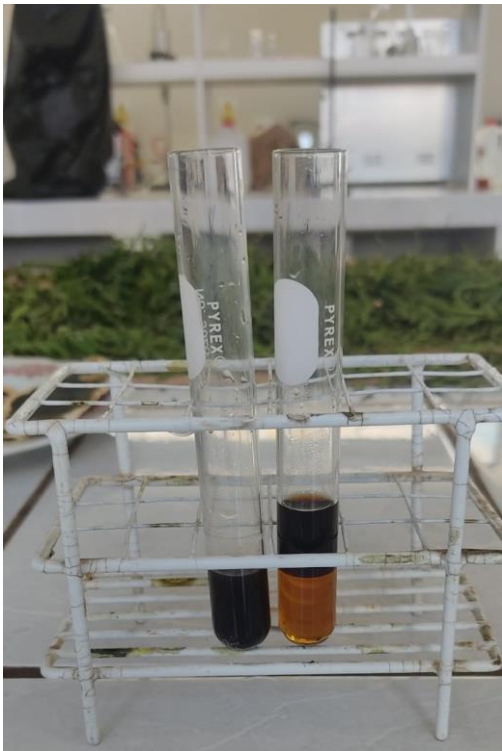
## OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL Y PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA



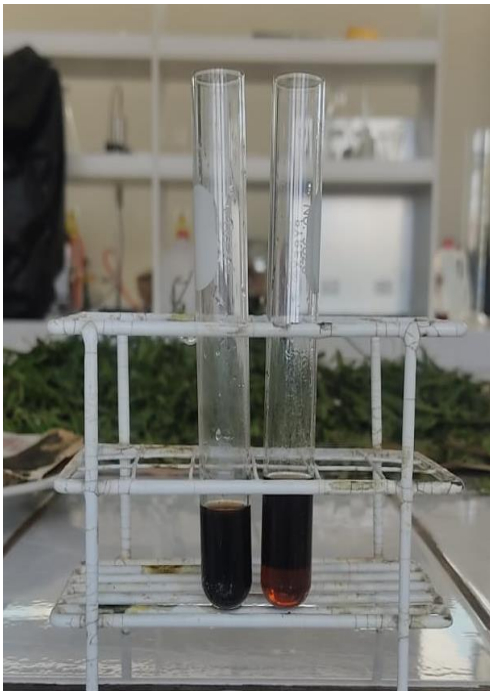


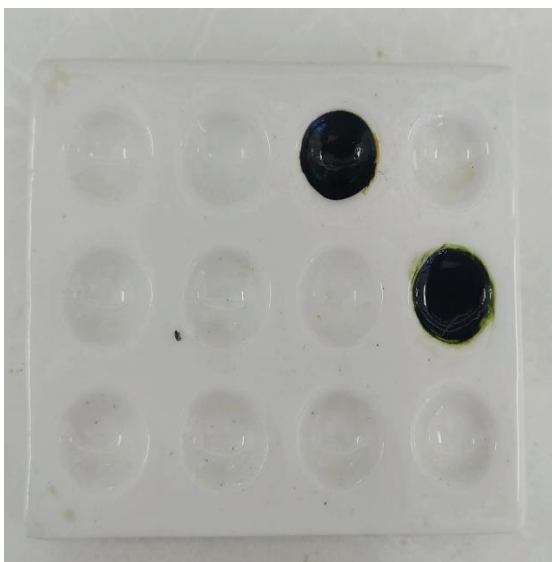


## OBTENCIÓN DE LAS FRACCIONES DE LA MUESTRA

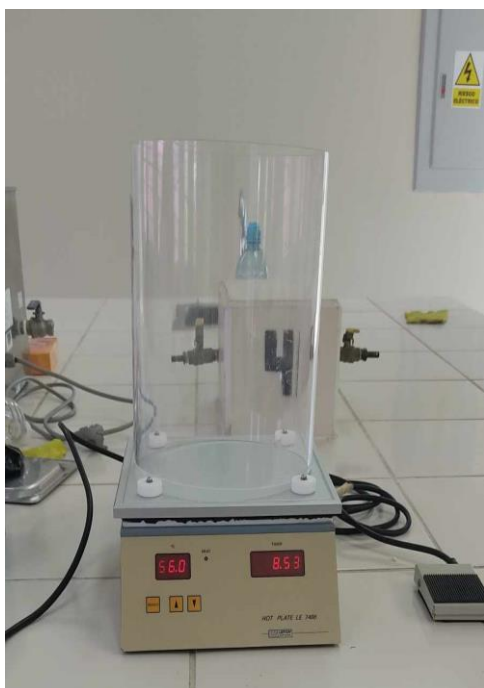


## TAMIZAJE FITOQUÍMICO





### EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE HOT PLATE





**EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE INDUCCIÓN DE CORTORSIONES POR ÁCIDO ACÉTICO**





**RESPUESTA MOTORA TIPO A  
(CONTRACCIÓN ABDOMINAL)**



**RESPUESTA MOTORA TIPO B  
(CONTRACCIÓN ABDOMINAL CON ROTACIÓN PÉLVICA)**



**RESPUESTA MOTORA TIPO C**

**(CONTRACCIÓN ABDOMINAL, ROTACIÓN PÉLVICA Y EXTENSIÓN DE UNA PATA TRASERA)**



**RESPUESTA MOTORA TIPO D**

**(CONTRACCIÓN ABDOMINAL, ROTACIÓN PÉLVICA Y EXTENSIÓN DE LAS DOS PATAS TRASERAS)**