

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

Presentada por la:

Bach. ESLACHIN CUEVAS, FLOR MARIA

Asesor:

Dr. Q.F. ARONÉS JARA, MARCO ROLANDO

Ayacucho - Perú

2023

A Dios por iluminar mi camino ya que con su gran corazón me bendijo con buenas personas que me guiaron para ser un buen ser humano.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, cuna de grandes profesionales.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por haberme acogido y contribuir a mi formación para ser un profesional de bien.

A mi asesor, el Dr. Q.F. ARONES JARA, Marco Rolando, asesor de la presente investigación, quien con su ardua experiencia y de manera incondicional guió el presente trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Antecedentes.....	3
2.2. Redacción del marco teórico.....	5
2.3. Variables del estudio.....	8
2.4. Hipótesis.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1. Ubicación.....	9
3.2. Definición de población y muestra.....	9
3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos.....	9
3.4. Procedimiento para la recolección de datos.....	9
3.4.4. Contenido de fenoles totales.....	10
3.4.5. Contenido de flavonoides.....	10
3.4.6. Determinación del potencial antioxidante.....	10
3.5. Alcance de investigación.....	12
3.6. Diseño experimental.....	12
3.7. Análisis de datos.....	12
IV. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIÓN.....	21
VI. CONCLUSIONES.....	25
VII. RECOMENDACIONES.....	27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

IX. ANEXOS	33
------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Identificación de metabolitos secundarios en las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	17

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	18
Figura 2. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	19
Figura 3. Concentración eficiente antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	20
Figura 4. Número de contorsiones por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn en la evaluación de la actividad analgésica.	21
Figura 5. Actividad analgésica por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn en comparación con indometacina.	22

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Identificación taxonómica <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	35
Anexo 2. Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	36
Anexo 3. Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.”	37
Anexo 4. Estadística descriptiva de la cuantificación de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	38
Anexo 5. Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples del porcentaje de actividad antioxidante por el método DDPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	39
Anexo 6. Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad y prueba de T de Student de la concentración eficiente antioxidante por el método DDPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	40
Anexo 7. Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples del número de contorsiones por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn en la evaluación de la actividad analgésica.	41
Anexo 8. Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples de la actividad analgésica por efecto del tratamiento con el	42

	extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	
Anexo 9.	Molienda de las hojas de <i>Mutisia Mathewsii</i> Hook & Arn.	43
Anexo 10.	Evaluación de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	44
Anexo 11.	Certificado de vacunación de los animales de experimentación	45
Anexo 12.	Matriz de consistencia	46

RESUMEN

Mutisia mathewsii Hook & Arn. es una especie nativa de la región de Ayacucho y sus hojas son usadas en forma de decocción como analgésico. El objetivo fue determinar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. mathewsii*. Los metabolitos se identificaron mediante el análisis cualitativo de ensayo a la gota. El extracto se obtuvo mediante extracción acelerada por solventes usando como solvente etanol 50°. El contenido de fenoles totales (TPC) se cuantificó usando el reactivo de Folin-Ciocalteu y fue expresado como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g) y el contenido de flavonoides (TFC) se cuantificó con el reactivo de tricloruro de aluminio y fue expresada como miligramos equivalentes a rutina por gramo (mg RUE/g). El potencial antioxidante se determinó usando el 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y fue expresado como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) y concentración eficiente (CE). La actividad analgésica se evaluó mediante el método del retorcimiento inducido por ácido acético en ratones. Los metabolitos secundarios presentes son fenoles y/o taninos, flavonoides y triterpenos y/o esteroides. El TPC y TFC fueron de $244,9 \pm 6,4$ mg EAG/g y $45,5 \pm 0,4$ mg ERU/g, respectivamente. El extracto presentó una actividad antioxidante de $54,3 \pm 0,3\%$ a $250 \mu\text{g/mL}$ y una concentración eficiente antioxidante de $217,6 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. mathewsii* presentó actividad analgésica de 62,5% a la dosis de 600 mg/kg. Se concluye que *M. mathewsii* es una especie con potencial actividad analgésica.

Palabras clave: Analgésico, *Mutisia mathewsii*, extracto hidroalcohólico.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable que se origina en alguna parte del cuerpo, se asocia con un daño tisular real o potencial y actúa como una señal de alarma cuando el cuerpo está lesionado o funciona mal.¹ El dolor es el resultado de un estado de enfermedad subyacentes y que viene acompañado de una liberación de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, citoquinas e interleucinas; así mismo, su tratamiento es sintomático.²

Para tratar el dolor se utilizan analgésicos, que son medicamentos que reducen o calman el dolor.² Entre ellos, los antiinflamatorios no esteroideos ocupan un lugar importante a nivel mundial, debido a que son fármacos que se utilizan en muchas enfermedades durante mucho tiempo, a veces incluso de por vida, para tratar el dolor, la inflamación y el edema; así como la artrosis, la artritis reumatoide artritis, espondilitis anquilosante, etc.³ Sin embargo, dichas terapias suelen estar acompañadas de efectos adversos y tiene un rango terapéutico limitado. En este contexto, hay una necesidad apremiante de investigar y descubrir nuevos fármacos analgésicos a partir de las plantas medicinales.²

En la medicina tradicional se ha evidenciado el uso de plantas medicinales para el tratamiento del dolor. Esta práctica ancestral que se mantiene hasta hoy en día y su uso en la terapia del dolor es muy popular y los reportes de plantas medicinales utilizadas como analgésicos es muy amplia y variada.²

La especie *Mutisia mathewsii* Hool & Arn, conocida vulgarmente en los andes peruanos como “mancharisqa” o “mancharisa” (asustado), es una especie endémica muy utilizada en el trastorno genitourinario, afecciones de los riñones, y de las vías urinarias, tos, **analgésico**, entre otros.^{4,5} Para tal efecto se realizan baños con la decocción de las ramas y flores.⁴

Entre los estudios sobre *M. mathewsii*, cabe mencionar al realiza por Condoli,⁶ quien evidenció que las hojas de *M. mathewsii* contienen triterpenos y/o

esteroides, flavonoides y fenoles y/o taninos; así mismo, reportaron que las hojas presentan un importante contenido de **fenoles totales** (TPC) y **flavonoides** (TFC) directamente proporcional a su actividad antioxidante.⁶ Asimismo, Ccochachi,⁷ determinó que las hojas de *M. mathewsii* poseen **actividad antiinflamatoria in vitro**.

Por lo expuesto, la presente investigación pretende determinar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*, para lo cual se planteó los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. en ratones de cepa *Wistar*.

Objetivos específicos

- a) Identificar la presencia de metabolitos secundarios en las hojas de *Mutisia mathewsii*.
- b) Cuantificar el contenido de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.
- c) Cuantificar el contenido de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.
- d) Evaluar el potencial antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.
- e) Evaluar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* mediante el método de retorcimiento inducido por ácido acético en ratones.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Los estudios de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. a la actualidad se circunscriben mayoritariamente a aspecto botánicos, tal como refieren Loja Herrera,⁸ Hurtado et al.,⁴ y Beltrán et al.⁹; así como estudios químicos y biológicos preliminares.

Respecto a la composición química y actividad biológica se han identificado dos investigaciones realizadas en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Condoli,⁶ informó sobre el contenido de fenoles y actividad antioxidante de *M. mathewsii* y concluyó que esta especie tiene un potencial contenido de compuestos fenólicos, en especial de flavonoides, e importante actividad antioxidante. Así mismo, Ccochachi,⁷ determinó que *M. mathewsii* presenta actividad antiinflamatoria *in vitro* y recomienda evaluar su actividad analgésica.

Las referencias consignadas a continuación son *Mutisia acuminata*, una especie endémica de nuestro país que reporta numerosas investigaciones, las cuales orientaron la presente investigación.

Coaguila et al.,¹⁰ evaluaron el efecto analgésico del extracto y crema de hojas de *Mutisia acuminata* (chinchircuma) en animales de experimentación. El extracto fue obtenido con etanol mediante extracción con soxhlet. La actividad analgésica fue evaluada mediante un estímulo doloroso térmico y un estímulo doloroso eléctrico. Identificaron la presencia de terpenos, flavonoides, saponinas y taninos mediante cromatografía en capa fina. Concluyeron que el extracto presenta efecto analgésico estadísticamente similar al grupo control.

Fortuna et al.,¹¹ evaluaron la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* en cerebros y cerebelos de ratas albinas. Observaron que durante 14 días de seguimiento no se presentó ningún signo de toxicidad ni alteración en su curva de crecimiento; asimismo, en el día 15, previo sacrificio de los animales, no se evidenció ninguna lesión en los tejidos del cerebro

y cerebelos; pero si encontraron presencia de edemas leves y moderados. Concluyeron que el extracto hidroalcohólico de *Mutisia acuminata* a 5000 mg/kg no presenta toxicidad.

Cayampi,¹² evaluó la actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* en cobayos; asimismo, identificó la presencia de taninos, fenoles, lactonas, flavonoides, saponinas. Demostró que los extractos de 100; 200 y 400 mg/kg presentan actividad diurética dosis dependiente.

Omote,¹³ evaluó la actividad antioxidante de una crema a base de compuestos fenólicos de flores de *Mutisia acuminata*. La actividad antioxidante se midió por el método DPPH y los resultados mostraron que la crema al 2% tenía un mejor porcentaje de inhibición de radicales libres (99,7%) en comparación con las cremas al 1% y al 5%. Concluyó que la crema elaborada a base de compuestos fenólicos aislados de *Mutisia acuminata* presenta actividad antioxidante.

A nivel internacional también hay reporte de estudios sobre especies del género *Mutisia* con información relevante y que fueron tomadas en cuenta en la realización de la presente investigación.

Catalano et al.,¹⁴ estudiaron las partes aéreas de *Mutisia acuminata*, y evidenciaron que el extracto hexánico contiene β -amirina, pseudotaraxasterol y lupeol, mientras que el extracto metanólico contiene arbutina, quercetina y quercetina-3-glucurónido.

Villegas et al.,¹⁵ evaluaron la actividad terapéutica de nueve plantas que se encuentran en la selva amazónica y los Andes cerca de Iquitos, incluida *Mutisia acuminata*. Examinaron sus propiedades toxicológicas, efectos sobre la presión arterial, el músculo liso y la permeabilidad capilar. *M. acuminata* no mostró actividad curativa en ratas, sin embargo, aumentó la permeabilidad capilar.

Catalano et al.,¹⁶ en una comunicación corta sobre la actividad antimicrobiana de extractos de *Mutisia acuminata* var. *Acuminata*, divulgaron la actividad biológica de los extractos metanólicos y acuoso de esta especie contra bacterias y hongos (esporas y micelios); así mismo, investigaron el papel del pH del medio en la actividad antimicrobiana.

Juárez et al.,¹⁷ en su investigación sobre los flavonoides de *Mutisia acuminata*, evidenció que sus hojas y flores contienen varios compuestos como la quercetina, quercetina-3-glucurónido, isorhamnetin-3-glucurónido y pelargonidina diglucósido; siendo este estudio el primer reporte de antocianinas en el género *Mutisia*.

Vituro et al.,¹⁸ realizó el estudio químico del aceite esencial de *Mutisia friesiana*. Determinaron que el aceite de *M. friesiana* es un sistema complejo constituido por 127 compuestos, de los cuales los componentes mayoritarios son los monoterpenos β -felandreno, (Z)- β -ocimeno, α y β -pineno y sabineno.

Vituro et al.,²⁰ en una comunicación corta sobre los eliminadores de radicales libres de *Mutisia friesiana* (Asteraceae) y *Sanicula graveolens* (Apiaceae), determinaron que el extracto soluble en agua de *Sanicula graveolens* y *Mutisia friesiana* mostraron actividad de eliminación de radicales en el ensayo de decoloración DPPH. El aislamiento guiado por bioensayo condujo a derivados del ácido cafeico y flavonoides como los principales compuestos activos de ambas especies. Después de la hidrólisis, el ácido cafeico y la quercetina resultaron ser los principios bioactivos de ambas plantas.

2.2. Redacción del marco teórico

2.2.1. *Mutisia mathewsii*

2.2.1.1. Identificación sistemática

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Mutisia</i>
Especie	: <i>Mutisia mathewsii</i>
N. V.	: “mancharisqa”, “mancharisa”, “siete sabios”.

La constancia fue emitida por la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

2.2.1.2. Descripción botánica

M. mathewsii tiene hojas alternas, simples, sésiles, lineares o linear-lanceoladas, de 50-80 x 1,5-2 mm, ápice filiforme y anular, base péndula, haz glabro o tomentoso. Capítulo solitario, terminal en forma de campana, heteromórfico, de 1,5-2,5 cm de alto, 2 cm de diámetro. El borde tiene forma de lígula, la flor femenina es amarillo-roja, la corola es bilabial, el labio externo está desarrollado, el labio interno es pequeño y filamentoso, y las flores hermafroditas son de disco amarillo. Su pappus es plumoso con muchos pelos tan largos como la corola.⁸

2.2.1.3. Distribución y hábitat

Se ha registrado esta especie en las regiones de Ancash, Ayacucho, Junín y Lima

en las regiones ecológicas de Puna Seca y Húmeda (PSH) Altoandina (AA) entre los 3600 - 4500 msnm.⁹

2.2.1.4. Propiedades y usos medicinales

M. mathewsii presenta propiedades contra el dolor de estómago, tos. Por otra parte, también nos mencionan que las hojas y flores se utilizan para combatir los síntomas de afecciones respiratorias virales, contra la fiebre.¹⁹

2.2.1.5. Composición química

Mutisia mathewsii presenta metabolitos secundarios, tales como, fenoles, lactonas, flavonoides, saponinas.¹²

2.2.2. Metabolitos secundarios

Desde las vías lateral laterales hasta la fotosíntesis, las plantas producen metabolitos secundarios que tienen funciones no nutricionales nutritivas pero que son importantes para su supervivencia. Son compuestos que se utilizan para protegerse de factores externos. Estos incluyen flavonoides, taninos, lignanos, cumarinas, alcaloides, terpenos y saponinas, entre otros.²⁰

2.2.3. Compuestos fenólicos

Los fenoles son compuestos ampliamente distribuidos en frutas y verduras. Se derivan de la clase más importante de metabolitos secundarios en plantas, principalmente de fenilalanina y una pequeña cantidad de tirosina. Los compuestos fenólicos constituyen una serie de sustancias presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas.²¹

2.2.4. Flavonoides

Los flavonoides constituyen un gran número de metabolitos, que se pueden dividir en varias clases según el nivel de oxidación de sus anillos de pirano. Según el sustituyente o la posición del anillo de benceno en el anillo de pirano, estos pueden ser auronas, catequinas, flavanonas, flavonoles, flavonas, flavonoles.²⁰

Estos compuestos presentan un esqueleto común de difenilpirano (C6-C3-C6) que consta de dos anillos de benceno (A y B) unidos por un anillo C de pirano (heterociclo). Los átomos de carbono en el anillo C y A están numerados del 2 al 8, y los átomos de carbono en el anillo B están numerados del 2' al 6'.²²

2.2.5. El dolor

2.2.5.1. Definición del dolor

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) definió el dolor en 1986 como una experiencia sensorial y emocional desagradable acompañada o descrita por daño tisular real o potencial.²³

Los estímulos nocivos, como un pinchazo o el calor de una fuente de calor, activan fibras sensoriales especializadas llamadas nociceptores. Esta estimulación genera un potencial de acción que viaja a través de los nervios periféricos hasta la médula espinal, activando otros circuitos neuronales, que a su vez actúan sobre los músculos y generan un reflejo de estremecimiento en la zona afectada para evitar daños mayores. Este dolor es de corta duración.²³

2.2.5.2. Tipos de dolor

El dolor puede clasificarse como agudo o crónico. La diferencia entre ambos no es únicamente una cuestión de temporalidad:

- El dolor agudo es una consecuencia directa de la activación noxa del sistema nociceptivo. Tiene una función bioprotectora. Los síntomas psicológicos son escasos y se limitaron a una ansiedad leve. Es un tipo de dolor nociceptivo que surge debido a la estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos.²⁴
- El dolor crónico no es protector y no se considera una enfermedad como síntoma. El dolor es constante que puede durar mucho tiempo después de una lesión o incluso en ausencia de una lesión. A menudo es difícil de tratar y se asocia con síntomas psicológicos significativos.²⁴

2.2.6. Antiinflamatorio no esteroideo (AINE)

Los AINE son fármacos con estructuras químicas heterogéneas que poseen actividades antipiréticas, antiinflamatorias y analgésicas. Ejercer su efecto al inhibir la producción de prostaglandinas proinflamatorias.²⁵ Los AINE incluyen al ibuprofeno, naproxeno o diclofenaco, entre otros; asimismo, a los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2 y el ácido acetilsalicílico (AAS).²⁵

2.2.6.1. Mecanismo de acción de los AINES

El mecanismo de acción de los AINE implica la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), que es responsable de la producción de prostaglandinas.²⁶ Las prostaglandinas son sustancias químicas que desempeñan un papel importante en la respuesta inflamatoria del cuerpo, la regulación de la temperatura corporal y la sensación de dolor. Hay dos isoformas principales de la enzima COX: COX-1 y COX-2. La COX-1 es una forma constitutiva de la enzima presente en muchas células del cuerpo, incluyendo las células del revestimiento del estómago y los riñones. La COX-2, por otro lado, se produce principalmente en respuesta a la inflamación y está implicada en el proceso inflamatorio. Los AINE actúan principalmente inhibiendo la COX-1 y la COX-2, lo que reduce la producción de

prostaglandinas. Al disminuir los niveles de prostaglandinas, se reduce la inflamación, el dolor y la fiebre. Sin embargo, es importante destacar que los diferentes AINE tienen diferentes grados de selectividad hacia la COX-1 y la COX-2.²⁶

Algunos AINE, como el ácido acetilsalicílico (aspirina), tienen una mayor afinidad por la COX-1 y pueden tener efectos secundarios relacionados con el revestimiento del estómago y la coagulación sanguínea. Otros AINE, como el ibuprofeno y el naproxeno, muestran una mayor selectividad hacia la COX-2 y pueden tener menos efectos secundarios gastrointestinales.²⁶

Es importante tener en cuenta que los AINE pueden tener otros efectos además de la inhibición de la COX, como la interferencia en la agregación plaquetaria, la modulación de la respuesta inmunitaria y la interacción con otros sistemas de señalización celular. Por lo tanto, es recomendable utilizar los AINE bajo la supervisión de un médico y siguiendo las indicaciones adecuadas.²⁶

2.3. Variables del estudio

a) Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.

Indicador:

Dosis de 200, 400 y 600 mg/kg.

b) Variable dependiente

Actividad analgésica.

Indicador:

Tiempo de reacción ante el dolor.

2.4. Hipótesis

H_i: El retorcimiento inducido por ácido acético en ratones disminuye por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.

H_o: El retorcimiento inducido por ácido acético en ratones no disminuye por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

La investigación se realizó en los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de población y muestra

3.2.1. Población

Hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

3.2.2. Muestra

Un kilo de hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

3.2.3. Unidad experimental

Veinticinco ratones macho de cepa *Wistar* de 20 a 25 g de peso aproximadamente que serán adquiridas de la Universidad Cayetano Heredia (Anexo 11, certificado de vacunación).

3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos

Para la evaluación de la actividad analgésica se utilizará la prueba de retorcimiento inducido por ácido acético en ratones de experimentación.

3.4. Procedimiento para la recolección de datos

3.4.1. Recolección de la muestra

Las hojas fueron recolectadas durante el mes de julio en el centro poblado de Huaraca, del distrito de Vinchos, de la provincia de Huamanga, del departamento de Ayacucho. Huaraca se ubica a una altitud de 3627 msnm y con coordenadas geográficas de 13°18'58.9" latitud sur, 74°26'55.8" longitud oeste.

Las hojas se secaron por liofilización en un liofilizador LABOTEC.²⁷ Las hojas secas liofilizadas fueron molidas en un molino de cuchillas y tamizados hasta obtener un tamaño de partícula mayor a 100 µm.

3.4.2. Identificación fitoquímica

La identificación de los metabolitos secundarios fue realizada mediante el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota.²⁸

3.4.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

La extracción se realizó mediante el método de extracción acelerada por solventes utilizando el Extractor Acelerado de Solventes Dionex™ ASE 150.²⁹ Para ello, un gramo de hojas secas y molidas se mezclaron con 0,5 gramos de tierra de diatomea y fueron colocados en una celda de acero inoxidable de 10 mL. El solvente de extracción fue una mezcla hidroalcohólica de 50°. La extracción se realizó a 100 °C, con un tiempo estático de 5 minutos, 3 ciclos estáticos, 66% de volumen de enjuague, tiempo de purga de 160 segundos y a 1500 psi. El extracto fue recolectado en un frasco de 120 mL. El extracto se concentró en un rotavapor a 40 °C y luego fue liofilizado.

3.4.4. Contenido de fenoles totales

El contenido de compuestos fenólicos (TPC) se cuantificó mediante el método de Folin-Ciocalteu (RFC).³⁰ Para ello se preparó una solución del extracto a una concentración de 320 µg/mL. Se adicionó 500 µL de RFC (1:10) a 100 µL de la solución del extracto y luego 400 µL de Na₂CO₃ al 7,5%. La reacción produjo una coloración azul directamente proporcional al contenido de fenoles totales, cuya absorbancia se midió a 765 nm. El TPC se expresó como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto hidroalcohólico (mg GAE/g), calculados a partir de una curva de calibración ácido gálico.

3.4.5. Contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides (TFC) se determinó mediante el método del tricloruro de aluminio.³⁰ A 2,0 mL de una solución del extracto de 800 µg/mL se adicionó 0,5 mL de AlCl₃ 2% y se completó a volumen de 5,0 mL con etanol 50°. Transcurrido 30 min se midió las absorbancias a 415 nm. El TFC se expresó en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto (mg RUE/g), calculados a partir de una curva de calibración de rutina.

3.4.6. Determinación del potencial antioxidante

La actividad antioxidante se determinó mediante el método de DPPH.³⁰ El método consistió en evaluar la disminución de la absorbancia de una solución de DPPH a 515 nm, por adición de 300 µL de solución del extracto hidroalcohólico y/o Trolox a 2,7 mL de solución de DPPH (40 µg/mL). El tiempo reacción evaluado fue después de 30 min calibrando el espectrofotómetro con el blanco (300 µL de agua

y 2,7 mL de DPPH). Primero se elaboró una curva de calibración de DPPH de la variación de la concentración de la absorbancia en función de la concentración de DPPH (1 a 40 µg/mL). Luego se preparó soluciones del extracto y/o Trolox de 25 a 250 µg/mL a los cuales se adicionó la solución de DPPH (40 µg/mL) y se calculó la concentración remanente de DPPH a partir de la curva de calibración de DPPH, según la ecuación.

$$\%DPPH_{REM} = \frac{[DPPH]_{T=t}}{[DPPH]_{T=0}} \times 100$$

donde $[DPPH]_{T=t}$ es la concentración remanente de DPPH a los 30 minutos y $[DPPH]_{T=0}$ es la concentración inicial de DPPH.

Posteriormente se calculó la concentración eficiente (CE) a partir de una curva exponencial obtenida de los valores del porcentaje de DPPH remanente en función de la concentración de la muestra (µg/mL) o del Trolox. Para ello se usó el software OriginPro 8

También se calculó el porcentaje de actividad antioxidante (%AA) para cada concentración del extracto y/o Trolox, mediante la ecuación:

$$AA(\%) = \left[\frac{A_c - (A_m - A_b)}{A_c} \right] \times 100$$

donde A_c es la absorbancia inicial de DPPH; A_m es la absorbancia de la muestra y A_b es la Absorbancia del blanco.

3.4.7. Evaluación de la actividad analgésica

La actividad analgésica se evaluó mediante la prueba de retorcimiento inducido por ácido acético en ratones según lo descrito en la publicación Balkrishna.³¹ Los ratones se dividieron aleatoriamente en cinco grupos de cinco cada uno. Los animales del grupo I recibieron un tratamiento de ácido acético por vía oral. Los ratones de los grupos II al IV recibieron tratamiento de extracto liofilizado a las dosis de 200, 400 y 600 mg/kg por vía oral; mientras que el grupo V recibió un tratamiento de diclofenaco sódico de 100 mg/kg por vía oral. Los extractos se administraron dos horas antes de inducir la nocicepción mediante la administración de ácido acético al 0,75% por vía intraperitoneal y luego de cinco minutos se contó el número de contorsiones en cada ratón durante 15 minutos. Una disminución en el número de contorsiones indicó la actividad antinociceptiva. El efecto analgésico porcentual se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Actividad\ analgésica = \frac{W_c - W_t}{W_c} \times 100$$

W_c es el número promedio de retorcimientos en grupo control y W_t es el número promedio de retorcimientos en cada grupo de tratamiento.

3.5. Alcance de investigación

El alcance de investigación es explicativo.³²

3.6. Diseño experimental

El diseño es de tipo experimental de posprueba únicamente y grupo control.³²

Simbólicamente y de forma abreviada corresponde a:

RG_n	X	O_n
RG_c	--	O_c

Donde RG_n es el grupo experimental y RG_c el grupo control; **X** es el tratamiento con extracto y/o diclofenaco más ácido acético, **O** es la observación de número de contorsiones y (--) ausencia de estímulo.

El diseño experimental para evaluar la actividad analgésica fue de cinco tratamientos y cinco repeticiones por grupo.

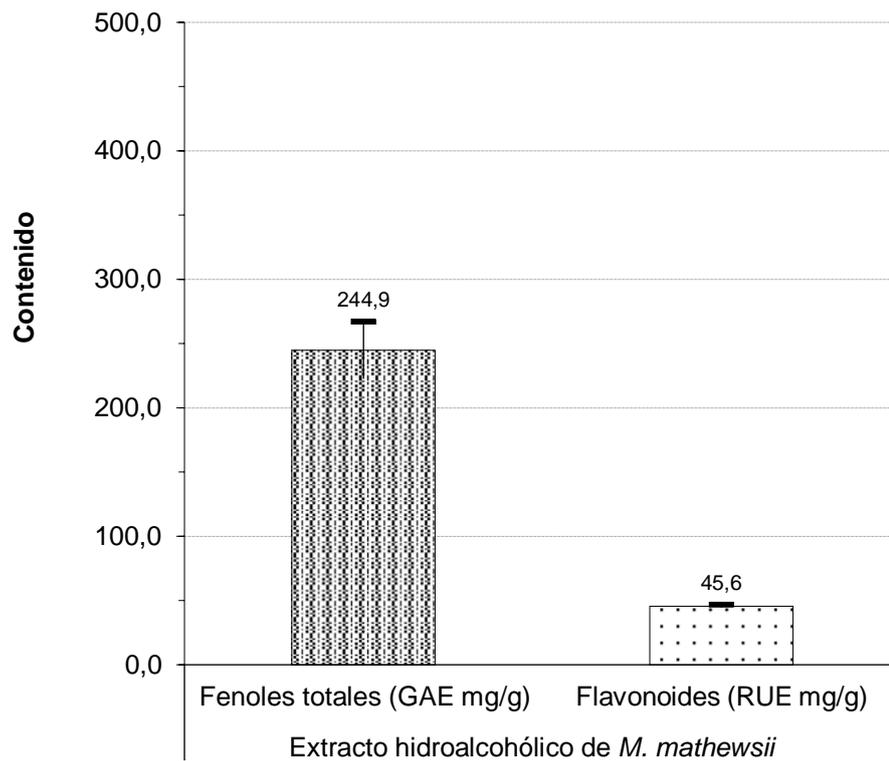
3.7. Análisis de datos

Los resultados se presentan en tablas y figuras. Las diferencias significativas entre los tratamientos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA), la prueba de T de Student de muestras independientes y prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95 %.

IV. RESULTADOS

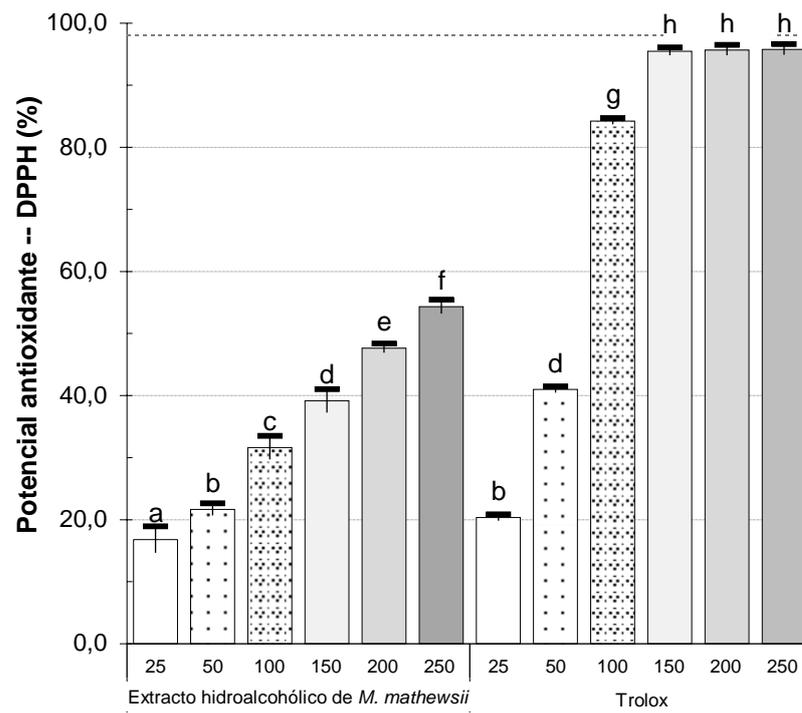
Tabla 1. Identificación de metabolitos secundarios en las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Burchard	+	Verde con halo marrón
Quinonas	Bortranger	-	
Flavonoides	Shinoda	+	Coloración amarilla
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	-	
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+	Coloración verde
Antocianinas	HCl	-	
	NaOH	-	
Alcaloides	Dragendorff	-	-
	Mayer	-	-
	Hager	-	-
Saponinas	Espuma	-	-
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	-	-



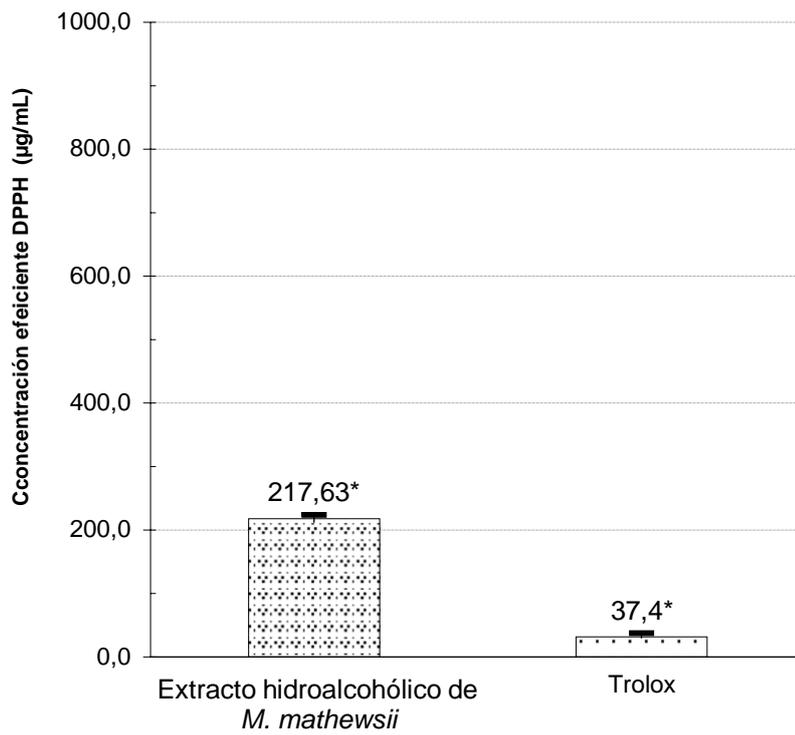
Nota: Curva de calibración de ácido gálico ($y = 0,0085x - 0,0055$); Curva de calibración de rutina ($y = 0,0206x - 0,0048$).

Figura 1. Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



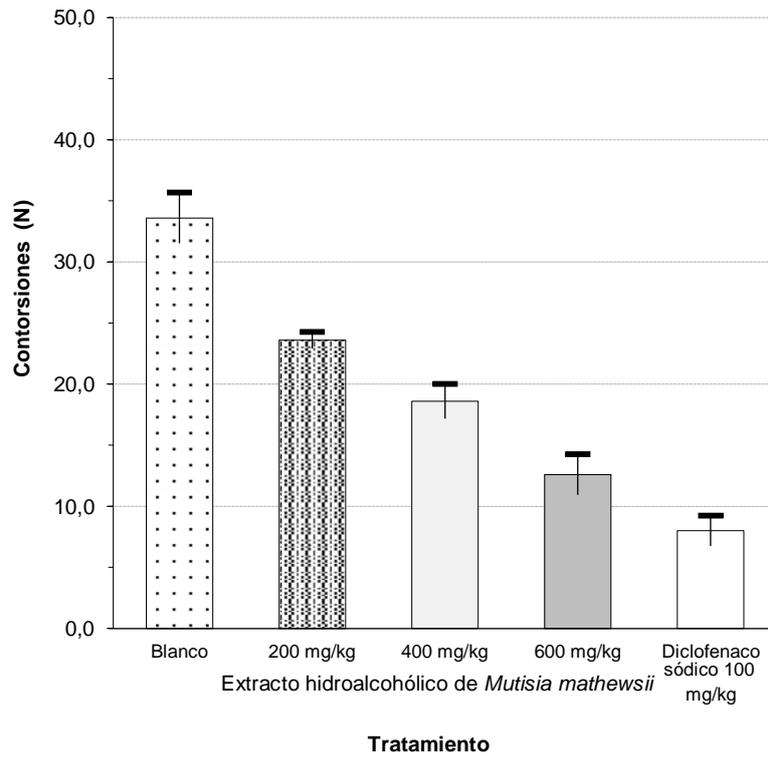
Nota: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey al 95% de nivel de confianza: a, b,... y h son subconjuntos homogéneos.

Figura 2. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



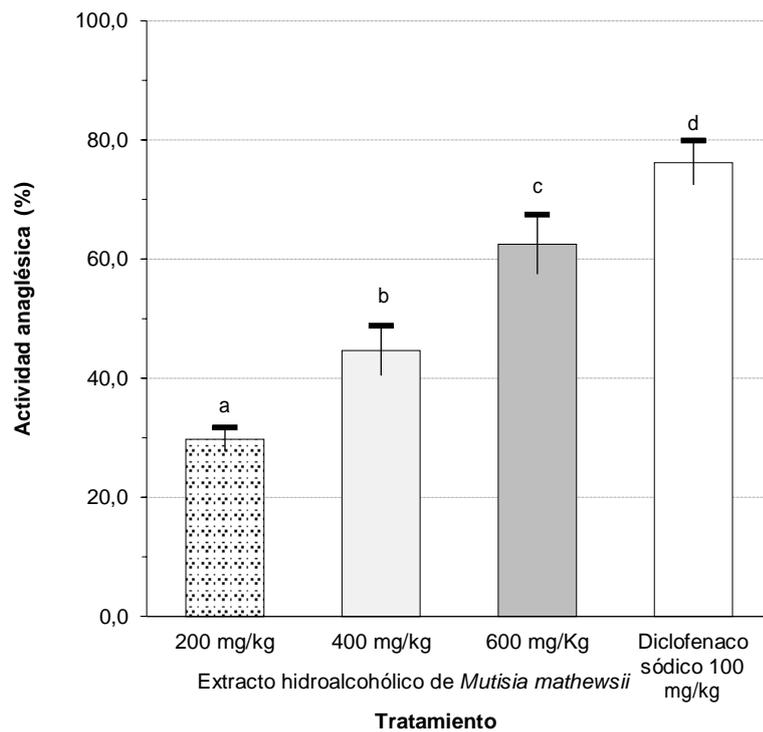
Nota: Concentración eficiente calculada a partir de la ecuación de recta del extracto ($y = -0,188x + 85,3$) y la ecuación exponencial del Trolox ($y = 95,8 - 206,4 \cdot e^{-0,04x}$); Prueba de T de Student de muestras independientes al 95% de nivel de confianza; * diferencia significativa.

Figura 3. Concentración eficiente antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



Nota: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey al 95% de nivel de confianza: a, b, ... y e son subconjuntos homogéneos.

Figura 4. Número de contorsiones por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn en la evaluación de la actividad analgésica.



Nota: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey al 95% de nivel de confianza: *a, b, ...* y *d* son subconjuntos homogéneos.

Figura 5. Actividad analgésica por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn en comparación con indometacina.

IV. DISCUSIÓN

Mutisia mathewsii es una especie nativa de la región de Ayacucho en Perú y sus hojas y flores son usadas en forma de decocción como analgésico.^{4,5} Por ello, esta investigación tuvo como objetivo determinar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* en ratones de cepa *Wistar*.

Las hojas de *M. mathewsii* fueron recolectadas en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos en el departamento de Ayacucho. La identificación de los metabolitos secundarios se realizó en las hojas liofilizadas de *M. mathewsii*. Se obtuvo el extracto hidroalcohólico liofilizado a partir de las hojas liofilizadas de *M. mathewsii* mediante el método de extracción acelerada de solventes. Se obtuvo el extracto usando como solvente una mezcla hidroalcohólica de 50° y se evaluó algunos parámetros de calidad como es el contenido de fenoles totales, flavonoides, así como la actividad antioxidante *in vitro*. La actividad analgésica del extracto hidroalcohólico, obtenido con etanol de 50°, se evaluó mediante la prueba de retorcimiento inducido por ácido acético en ratones.

En la Tabla 1 se presenta los resultados de la identificación de metabolitos en las hojas de *M. mathewsii*, en el que se destaca la presencia de fenoles y/o taninos, flavonoides y triterpenos y/o esteroides. Los resultados obtenidos son coherentes con lo reportado por Condoli.⁶

Los metabolitos secundarios con actividad antioxidante son compuestos producidos por las plantas y otros organismos que pueden proteger contra el daño oxidativo causado por los radicales libres. Algunos de los metabolitos secundarios más conocidos con actividad antioxidante incluyen los polifenoles, carotenoides, flavonoides, el ácido ascórbico, el ácido elálgico. Asimismo, se ha demostrado que tiene propiedades antioxidantes, analgésicas y antiinflamatorias.²⁷ Estos son solo algunos ejemplos de metabolitos secundarios con actividad antioxidante. Hay

muchos otros compuestos presentes en alimentos y plantas que también pueden tener propiedades antioxidantes y beneficios para la salud.

De la cuantificación de compuestos fenólicos, el extracto hidroalcohólico liofilizado presentó un contenido de fenoles totales de $244,9 \pm 6,4$ mg GAE/g de extracto liofilizado (Figura 1) calculado a partir de una curva de calibración de ácido gálico ($y = 0,0085x - 0,0055$) (Anexo 2). El contenido de flavonoides fue de $45,5 \pm 0,4$ mg RUE/g de extracto liofilizado (Figura 1) calculado a partir de una curva de calibración de rutina ($y = 0,0206x - 0,0048$) (Anexo 3). El contenido de fenoles totales es aproximado a lo reportado por Condoli,⁶ quien reportó valores de 262,3 mgGAE/g; aunque con un valor de contenido de flavonoides es inferior.

La actividad antioxidante fue determinada por el método *in vitro* DPPH y fue expresado como porcentaje de actividad antioxidante (%AA). La actividad antioxidante fue evaluada a las concentraciones de 25 µg/mL a 250 µg/mL y fue comparada con el Trolox a las mismas concentraciones. El extracto hidroalcohólico liofilizado de *M. mathewsii* presentó una actividad antioxidante directamente proporcional a su concentración, presentado un valor de $54,3 \pm 0,3\%$ a 250 µg/mL (Figura 2 y Anexo 5) aunque estadísticamente menor al Trolox a las concentraciones de 100 a 250 µg/mL (Figura 2 y Anexo 5).

La actividad antioxidante también fue expresada como concentración eficiente antioxidante (CE). La CE del extracto fue calculada a partir de la ecuación de la recta ($y = -0,188x + 85,3$) de la variación de la actividad antioxidante (%AA) en función de la concentración (µg/mL), que fue comparada con la CE50 del Trolox calculada a partir de la ecuación exponencial ($y = 95,8 - 206,4.e^{-0.04x}$). Cabe mencionar que el CE es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, quiere decir que a menor CE mayor actividad antioxidante. El extracto hidroalcohólico liofilizado de *M. mathewsii* presentó un CE de $217,6 \pm 1,8$ µg/mL (Figura 3 y Anexo 6) aunque estadísticamente diferente al Trolox que presentó un valor de $37,4 \pm 0,1$ µg/mL (Figura 3 y Anexo 6). Condoli, reportó un valor de concentración eficiente antioxidante de 262,6 µg/mL que se aproxima a lo evidenciado en esta investigación.

Respecto a la evaluación de la actividad analgésica, se evaluó el número de contorsiones producidas por la administración de ácido acético al 0,75% reportando un promedio de $33,6 \pm 0,7$ contorsiones. Seguidamente se evaluó el número de contorsiones producidas por efecto de ácido acético previa administración del extracto a diferente dosis y de indometacina, con la finalidad de

determinar la reducción del número de contorsiones. Se evidenció que el extracto a dosis de 600 mg/kg redujo significativamente ($p < 0,05$) el número de contorsiones de $33,6 \pm 0,7$ a $12,6 \pm 0,6$ (Figura 4 y Anexo 7), aunque la reducción del número de contorsiones fue significativamente mayor ($p < 0,05$) tras la administración de diclofenaco sódico 100 mg/kg. De tal manera que el extracto a la dosis de 600 mg/kg presentó un 62,5% estadísticamente mayor que las dosis de 200 y 400 mg/kg, aunque estadísticamente inferior a la indometacina 100 mg/kg ($p < 0,05$).

El potencial antioxidante se atribuye a compuestos fenólicos como los flavonoides, sin embargo, dependerá de factores como la cantidad y posición de los grupos hidroxilo.³³ Los flavonoides actúan a través de la transferencia de electrones a los radicales libres. En este caso, los estudios han informado que los flavonoides que presentan en su composición no más de dos grupos hidroxilo son antioxidantes prometedores, debido a un mayor número de grupos hidroxilo que pueden cambiar su configuración estructural. Otro factor con el que se relaciona la actividad es el doble enlace entre C2=C3, que se encarga de conferir un desplazamiento entre los anillos y la expansión electrónica, sin embargo, existe la necesidad de identificar los componentes del extracto para dilucidar sus estructuras.³⁴

Respecto a la actividad analgésica, Diaz,³⁵ utilizando el mismo método, reportó una disminución del número de contorsiones de 36 a 8 por efecto del extracto atomizados de hojas de *Solanum nitidum*, con un porcentaje de actividad analgésica de 77,8%, valor superior a lo obtenido con el extracto hidrolalcohólico de hojas de *M. mathewsii*.

El retorcimiento en ratones por efecto del ácido acético se ha asociado con la liberación de sustancias endógenas como serotonina, histamina, prostaglandina y bradiquinina y los resultados obtenidos en esta prueba sugieren que el extracto de *M. mathewsii* posee propiedades analgésicas periféricas.³⁶ Entre los flavonoides con reconocida actividad analgésica tenemos a la quercetina.³⁷

Los metabolitos secundarios con actividad analgésica son compuestos que pueden aliviar el dolor en el cuerpo. Aquí hay algunos ejemplos de metabolitos secundarios con propiedades analgésicas: alcaloides, terpenoides, salicilatos, glicosaminoglicanos. Además, es importante tener en cuenta que el uso de metabolitos secundarios con actividad analgésica puede variar según la forma de administración, la dosis y las necesidades individuales. Siempre es recomendable

consultar a un profesional de la salud antes de usar cualquier compuesto con fines analgésicos.²⁷

La actividad analgésica en cierto modo tiene relación con la actividad antiinflamatoria. Ccochachi,⁷ determinó que las hojas de *M. mathewsii* posee actividad antiinflamatoria, evaluada por el método de edema plantar inducido por carragenina. Y se informó que los flavonoides tienen actividad antiinflamatoria a través de muchas acciones, incluyendo la inhibición de factores de transcripción y enzimas reguladoras que tienen un papel crucial en el control de mediadores involucrados en la inflamación; además son capaces de eliminar ROS y mejorar los mecanismos inmunes y las células; modular el proceso secretor; actuar sobre las enzimas del ácido araquidónico mediante la inhibición de la lipoxigenasa actividad; modular de la transducción de señales; inhibir de la síntesis de leucotrienos; inhibir la producción de citoquinas (prostaglandinas, No sintasa, IL, TNF-alfa) y; modular de la actividad enzimática; inhibir la COX-2.³⁷

Por los considerandos expuesto se puede afirmar que *M. mathewsii* es una especie con potencial para seguir estudios más profundos respecto a su composición química y actividad analgésica.

VI. CONCLUSIONES

1. Las hojas de *M. mathewsii* contienen fenoles y/o taninos, flavonoides y triterpenos y/o esteroides.
2. El contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. mathewsii* fue de $244,9 \pm 6,4$ mg GAE/g y $45,5 \pm 0,4$ mg RUE/g, respectivamente.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. mathewsii* presentó una actividad antioxidante de $54,3 \pm 0,3\%$ a $250 \mu\text{g/mL}$ y una concentración eficiente antioxidante de $217,6 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. mathewsii* presentó actividad analgésica de $62,5\%$ a la dosis de 600 mg/kg .

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar el estudio de la composición química de las hojas de *M. mathewsii* mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas.
2. Evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria de las hojas de *M. mathewsii* mediante otras técnicas *in vivo* e *in vitro*.
3. Evaluar la actividad biológica de las hojas de *M. mathewsii* en diferentes fracciones obtenidas con diferentes solventes.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Font E. Analgesia y analgésicos. *Offarm.* 2002; 21(9): 70–8.
2. Estella OU, William AC, Patrick O, Ikenna C, Mba T, Obinna O, et al. Evaluation of the analgesic and antipyretic activity of methanol extract of *Combretum bauchiense* Hutch & Dalziel (Combretaceae) leaves. *Phytomedicine Plus.* 2022; 2(1): 100166. doi:10.1016/j.phyplu.2021.100166
3. Villajulca Carranza TL. Tendencia de consumo de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos dispensados en establecimientos farmacéuticos de Trujillo, 2015-2018 [Tesis de pregrado]. [La Libertad]: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
4. Hurtado-Huarcaya J, Castañeda R, Albán J. Asteráceas medicinales en dos comunidades andinas del sur del Perú: Quinoa (Ayacucho) y Lircay (Huancavelica). *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat.* 2021; 20(4): 351–66.
5. Hensen I. La flora de la comunidad Chorojo: su uso, taxonomía y vernacular [Internet]. Agruco. Cochabamba: AGRUCO.; 1992 [cited 2022 Sep 13].
6. Condoli Romaní RE. Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018.
7. Ccochachi Torres Y. Actividad antiinflamatoria in vivo del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, Ayacucho–2020 [Tesis de pregrado]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2021.
8. Loja Herrera B. Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción,(Junín): Dicotiledóneas [Tesis maestría]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.
9. Beltrán H, Granda A, León B, Sagástegui A, Sánchez I, Zapata M. Asteraceae endémicas del Perú. *Rev Peru Biol.* 2006; 13(2): 64–164.
10. Coaguila Huancollo RD, Yauri Quispe NB. Determinación del efecto analgésico tópico del extracto y crema de hojas de *Mutisia acuminata* (Chinchircuma) en animales de experimentación. Arequipa, 2013 [Internet] [Tesis de pregrado]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María; 2013 [cited 2022 Sep 12].

11. Fortuna García EF. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. "chinchilcoma" en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzmann [Internet]. [Lima]: Universidad Wiener; 2013 [cited 2022 Sep 12].
12. Cayampi Pumallihua GM. Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R. & P. "chinchilcoma" en cobayos. Ayacucho-2014 [Internet]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [cited 2022 Sep 13].
13. Omonte Quispe AD. Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013. [Internet] [Tesis de pregrado]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [cited 2022 Sep 13].
14. Catalano S, Cioni PL, Flamini G, de Feo V, Morelli I. Chemical Investigation of the Aerial Parts of *Mutisia Acuminata*. *International Journal of Pharmacognosy*. 1995; 33(1): 73–4. doi:10.3109/13880209509088152
15. Villegas LF, Fernández ID, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg AJ, et al. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peril. *J Ethnopharmacol*. 1997; 55: 193–200.
16. Catalano S, Cioni PL, Panizzi L., Morelli I. Antimicrobial activity of extracts of *Mutisia acuminata* var. *acuminata*. *J Ethnopharmacol*. 1998; 59: 207–9.
17. Juárez BE, Mendiondo ME. Flavonoids from *Mutisia acuminata*. *Pharm Biol*. 2003; 41(4): 291–2.
18. Viturro CI, de la Fuente J. Chemical Study of the Essential Oil of *Mutisia Friesiana*. *Molecules*. 2000; 5: 568–70.
19. Santillán MPR, Coico FRM. Plantas utilizadas en medicina tradicional para afecciones respiratorias virales. *Revista de Investigación Científica Rebiol*. 2020; 40(1): 109–30.
20. Hernández Guance SN, Marino L, Isern DM, Coria ID, Irurzun IM. Flavonoides: aplicaciones medicinales e industriales. *Invenio*. 2019; 22.
21. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2009. p. 121–34.

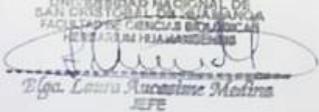
22. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp.* 2002; 17(6): 271–8.
23. García G, Mendieta L, Alatraste V, Luna F, Limón D, García MIM. El dolor. Una revisión a la evolución del concepto. *Ciencia Nicolaita.* 2016; (69).
24. Lorenzo P, Moreno A, Leza JC, Lizasoain I, Moro MA, Portolés A. *Farmacología Básica y Clínica* (18ª edición). Madrid España, Editorial Médica Panamericana. 2008; .
25. Loza E. AINEs en la práctica clínica: lo que hay que saber. *Inf Ter Sist Nac Salud.* 2011; 35(3): 88–95.
26. Nuñez Cámara C, Ventura López P, Martínez Escudero JA. AINEs clasico e inhibidores selectivos de la COX-2. *Boletín Farmacoterapéutico de Castillala Mancha.* 2001; 2(4): 1–8.
27. Kuklinski C. *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.* Barcelona: Omega; 2000.
28. Lock de Ugaz O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.* 2da ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica el Perú; 1994.
29. Barros F, Dykes L, Awika JM, Rooney LW. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds from sorghum brans. *J Cereal Sci.* 2013; 58(2): 305–12. doi:10.1016/J.JCS.2013.05.011
30. Sousa CM de M, Rocha e Silva H, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova.* 2007; 30(2): 351–5. doi:https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021
31. Balkrishna A, Ranjan R, Sakat SS, Sharma VK, Shukla R, Joshi K, et al. Evaluation of polyherbal ayurvedic formulation 'Peedantak Vati' for anti-inflammatory and analgesic properties. *J Ethnopharmacol.* 2019; 235: 361–74.
32. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación.* 5a ed. México: McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. DE C.V.; 2010.
33. Vuolo MM, Lima VS, Junior MRM. Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In: *Bioactive compounds.* Elsevier; 2019. p. 33–50.
34. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia.* 2014; 23(4): 239–44.

35. Diaz Meza G. Actividad analgésica del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* R. &P. “ñuñunga.” Ayacucho 2018 [Tesis de pregrado]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2019.
36. Collier HO, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother.* 1968; 32(2): 295.
37. Abou Baker DH. An ethnopharmacological review on the therapeutical properties of flavonoids and their mechanisms of actions: A comprehensive review based on up to date knowledge. *Toxicol Rep.* 2022; 9: 445–69. doi:10.1016/j.toxrep.2022.03.011

IX. ANEXOS

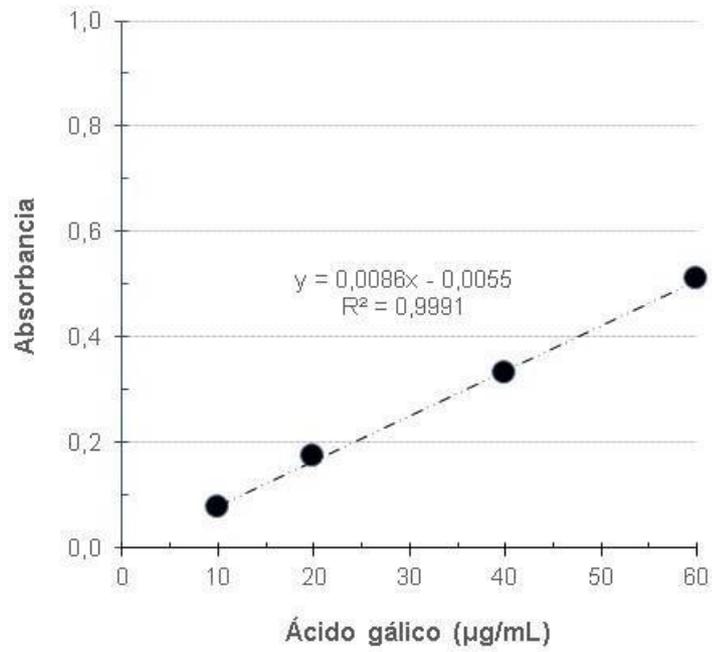
Anexo 1

Identificación taxonómica *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

	EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE "SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"
<u>C E R T I F I C A</u>	
Que el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación	
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988 y es como sigue	
DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	ASTERIDAE
ORDEN	ASTERALES
FAMILIA	ASTERACEAE
GENERO	<i>Mutisia</i>
ESPECIE	<i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.
N V	chinchilcuma
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente	
Ayacucho 7 de Setiembre del 2017	
 Dña. Laura Roxana Medina JEFE	

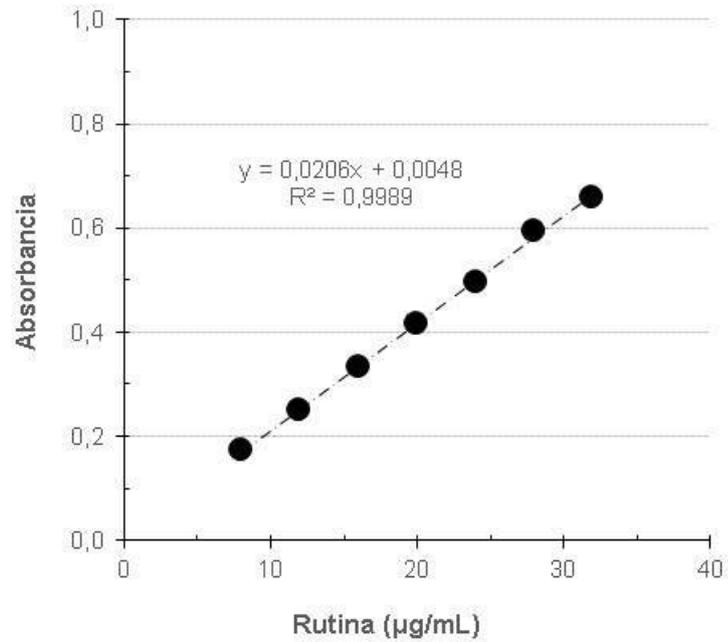
Anexo 2

Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



Anexo 3

Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



Anexo 4

Estadística descriptiva de la cuantificación de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

Parámetro	Extracto	N	Media	Desv. Estándar	Desv. Error promedio
Contenido de fenoles totales	Extracto hidroalcohólico	3	244,9	11,0	6,4
Contenido de flavonoides	Extracto hidroalcohólico	3	45,6	0,6	0,4

Anexo 5

Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples del porcentaje de actividad antioxidante por le método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

Tratamiento	N	Media	Dev. Desviación	Dev. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox 25 ug/mL	3	20,3	1,0	0,6	17,8	22,8	19,3	21,3
Trolox 50 ug/mL	3	40,8	0,2	0,1	40,5	41,2	40,7	41,0
Trolox 100 ug/mL	3	84,5	0,3	0,2	83,7	85,2	84,2	84,8
Trolox 150 ug/mL	3	95,5	0,3	0,2	94,8	96,3	95,3	95,9
Trolox 200 ug/mL	3	95,6	0,4	0,2	94,6	96,6	95,2	96,0
Trolox 250 ug/mL	3	95,6	0,4	0,2	94,6	96,7	95,2	96,0
Ext. Hid. 50° 25 ug/mL	3	16,8	1,0	0,6	14,2	19,4	15,7	17,8
Ext. Hid. 50° 50 ug/mL	3	21,6	0,5	0,3	20,5	22,8	21,1	22,1
Ext. Hid. 50° 100 ug/mL	3	31,6	0,9	0,5	29,3	33,9	31,0	32,7
Ext. Hid. 50° 150 ug/mL	3	39,1	0,9	0,5	36,8	41,4	38,1	39,9
Ext. Hid. 50° 200 ug/mL	3	47,6	0,4	0,2	46,7	48,5	47,2	48,0
Ext. Hid. 50° 250 ug/mL	3	54,3	0,5	0,3	53,0	55,7	53,9	54,9
Ext. Hid. 70° 25 ug/mL	3	3,2	0,4	0,3	2,1	4,3	2,7	3,5
Ext. Hid. 70° 50 ug/mL	3	5,9	0,2	0,1	5,3	6,4	5,7	6,1
Ext. Hid. 70° 100 ug/mL	3	9,9	0,4	0,2	8,9	10,8	9,6	10,3
Ext. Hid. 70° 150 ug/mL	3	17,5	0,7	0,4	15,6	19,3	16,9	18,3
Ext. Hid. 70° 200 ug/mL	3	27,7	0,8	0,4	25,8	29,6	26,8	28,2
Ext. Hid. 70° 250 ug/mL	3	37,5	0,4	0,2	36,6	38,4	37,3	37,9

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
Se basa en la media	1,7	17	36,0	0,102
Se basa en la mediana	0,5	17	36,0	0,951
Se basa en la mediana y con gl	0,5	17	18,3	0,938
Se basa en la media recortada	1,5	17	36,0	0,138

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	50717,1	17	2983,4	8102,2	2,8 E-59
Dentro de grupos	13,3	36	0,4		
Total	50730,4	53			

Factor_AA	N	Subconjunto para alfa = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ext. Hid. 70° 25 ug/mL	3	3,2												
Ext. Hid. 70° 50 ug/mL	3		5,9											
Ext. Hid. 70° 100 ug/mL	3			9,9										
Ext. Hid. 50° 25 ug/mL	3				16,8									
Ext. Hid. 70° 150 ug/mL	3				17,5									
Trolox 25 ug/mL	3					20,3								
Ext. Hid. 50° 50 ug/mL	3					21,6								
Ext. Hid. 70° 200 ug/mL	3						27,7							
Ext. Hid. 50° 100 ug/mL	3							31,6						
Ext. Hid. 70° 250 ug/mL	3								37,5					
Ext. Hid. 50° 150 ug/mL	3								39,1	39,1				
Trolox 50 ug/mL	3									40,8				
Ext. Hid. 50° 200 ug/mL	3										47,6			
Ext. Hid. 50° 250 ug/mL	3											54,3		
Trolox 100 ug/mL	3												84,5	
Trolox 150 ug/mL	3													95,5
Trolox 200 ug/mL	3													95,6
Trolox 250 ug/mL	3													95,6
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0	0,4	1,0	1,0	0,2	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0

Anexo 6

Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad y prueba de T de Student de la concentración eficiente antioxidante por el método DDPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.]

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Trolox	3	37,4	0,004	0,1
Extracto hidroalcohólico	3	217,6	3,074	1,8

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	13,709	0,021	-101,560	4	5,6 E-08	-180	2	-185	-175
No se asumen varianzas iguales			-101,560	2,000	9,7 E-05	-180	2	-188	-173

Anexo 7

Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples del número de contorsiones por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. en la evaluación de la actividad analgésica.

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	5	33,6	1,7	0,7	31,5	35,7	32,0	36,0
Diclofenaco sódico 100 mg/kg	5	8,0	1,0	0,4	6,8	9,2	7,0	9,0
200 mg/kg	5	23,6	0,5	0,2	22,9	24,3	23,0	24,0
400 mg/kg	5	18,6	1,1	0,5	17,2	20,0	17,0	20,0
600 mg/kg	5	12,6	1,3	0,6	10,9	14,3	11,0	14,0

Contorsiones	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
Se basa en la media	1,550	4	20,0	0,226
Se basa en la mediana	0,647	4	20,0	0,635
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,647	4	15,1	0,637
Se basa en la media recortada	1,615	4	20,0	0,210

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	1980,2	4	495,1	343,8	3,9 E-18
Dentro de grupos	28,8	20	1,4		
Total	2009,0	24			

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
Diclofenaco sódico 100 mg/kg	5	8,0				
600 mg/Kg	5		12,6			
400 mg/Kg	5			18,6		
200 mg/Kg	5				23,6	
Blanco	5					33,6
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Anexo 8

Estadística descriptiva, prueba de homocedasticidad, análisis de varianza y comparaciones múltiples de la actividad analgésica por efecto del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Diclofenaco sódico 100 mg/kg	5	76,2	3,0	1,3	72,5	79,9	73,2	79,2
200 mg/kg	5	29,8	1,6	0,7	27,8	31,7	28,6	31,5
400 mg/kg	5	44,7	3,4	1,5	40,5	48,8	40,5	49,4
600 mg/kg	5	62,5	4,0	1,8	57,5	67,5	58,3	67,3

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
Se basa en la media	1,9	3	16,0	0,173
Se basa en la mediana	0,6	3	16,0	0,617
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,6	3	11,8	0,620
Se basa en la media recortada	1,9	3	16,0	0,170

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	6189,1	3	2063,0	211,1	4,5 E-13
Dentro de grupos	156,4	16	9,8		
Total	6345,5	19			

Factor_AA	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
200 mg/Kg	5	29,8			
400 mg/Kg	5		44,7		
600 mg/Kg	5			62,5	
Diclofenaco sódico 100 mg/kg	5				76,2
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0

Anexo 9

Molienda de las hojas de *Mutisia Mathewsii*. Hook & Arn.




Anexo 10

Evaluación de la actividad analgésica de del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.



Anexo 11

Certificado de vacunación de los animales de experimentación

Nº 1589139							
COLEGIO MEDICO VETERINARIO DEL PERU Pedro Irigoyen 208 - Santa Rita Surco - Lima - Perú							
CMVD LIMA	CERTIFICADO DE VACUNACION						
El Médico Veterinario que suscribe CERTIFICA, haber vacunado contra:							
LUIS MADRID CISNEROS							
el animal que a continuación se reseña:							
Especie	RATAS	Raza	CEPA BALB/c	Sexo	30 MACHOS	Edad	3 a 4 MESES
Nombre	HOLLMAN	Señas Particulares (color, tatuaje, etc.)		BLANCOS			
Propietario:	FLOR MARÍA ESLACHIN CUEVAS			Dirección:			JR. LOS HÉROES DEL CENEP -
	ASOCIACIÓN DE LICENCIADOS AYACUCHO DNI: 72882467			Fecha:			02 DE SETIEMBRE DEL 2022
Dr. Luis M. Madrid Cisneros VETERINARIO CLINICO CIRUJANO CMVP. 3123 - Calle 927 Calle 4-990-016 13 Florido-Rimac.		Fecha de Vencimiento:		UNIVERSIDAD NACIONAL			
		Observación:		SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA.			
Nombres y Apellidos - Dirección y Nº CMVP del Médico Veterinario responsable Telf.: 986428117		 Firma					

Anexo 10

Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	DISEÑO METODOLÓGICO
Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.	¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> tendrá actividad analgésica en ratones?	<p>Objetivo general Determinar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> en ratones de cepa <i>Wistar</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el retorcimiento inducido por ácido acético en ratones por efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Mutisia mathewsii</i>. 	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> posee actividad analgésica.	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i>.</p> <p>Indicador: Dosis de 200, 400 y 600 mg/kg.</p> <p>Variable dependiente Actividad analgésica</p> <p>Indicador: Tiempo de reacción ante el dolor.</p>	Coaguila y yauri en el 2014 evaluaron el efecto analgésico tópico del extracto y crema de hojas de <i>Mutisia acuminata</i> (chinchircuma) en animales de experimentación". Fortuna en el 2013 evaluó la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de <i>Mutisia acuminata</i> R.&P. "chinchilcuma" en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzmann".	<p>Tipo de investigación: Aplicada</p> <p>Población: Hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> procedentes del centro poblado Huaraca, del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga.</p> <p>Muestra: Un kilo de hojas secas de <i>Mutisia mathewsii</i>, recolectadas del centro poblado de Huaraca, distrito de Vinchos.</p> <p>Unidad experimental: Veinticinco ratones de cepa <i>Wistar</i> con 20-25 g de peso.</p> <p>Metodología Este estudio será realizado conforme al método descrito por Koster <i>et al</i> con algunas modificaciones.</p> <p>Diseño experimental Diseño experimental con posprueba y grupo control.</p> <p>Análisis estadístico Los resultados se presentan en tablas y figuras. Las diferencias significativas entre los tratamientos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA), la prueba de T de Student de muestras independientes y prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95 %.</p>

presente, siendo las 10:30 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica
Presidente



Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro



Prof. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro



Prof. Stephany Massiell Barbarán Vilcatoma
4to Miembro



Prof. Edith Eveling Conislla Cáceres
Secretaria Docente



UNSCH

**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**DOCENTES INSTRUCTORES
DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO**



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD PRIMERA INSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS - 015 - 2023

El suscrito docente – instructor responsable de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica designado por Resolución Decanal N° 0453 – 2023 – UNSCH – FCSA/D de fecha 15 de mayo de 2023, deja constancia que el trabajo de tesis titulado: “**Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.**”

Autor: Bach. **Flor Maria ESLACHIN CUEVAS**

Asesor: Profesor **Marco Rolando ARONÉS JARA**

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **25 % de Índice de Similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga es procedente conceder **la Constancia de Originalidad en Primera Instancia.**

Ayacucho, 02 de agosto de 2023

Firmado
digitalmente por
Enrique Javier
Aguilar Felices
Fecha:
2023.08.02
23:08:02 -05'00'



Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES
Docente – Instructor

cc. Archivo



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°30-2023-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.

Presentado por: **Bach.** ESLACHIN CUEVAS, Flor Maria

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 05 de agosto del 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.”

por Flor Maria Eslachin Cuevas

Fecha de entrega: 05-ago-2023 01:31a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2141590606

Nombre del archivo: Tesis_Flor_Eslachin_Cuevas.pdf (953.24K)

Total de palabras: 7920

Total de caracteres: 44550

Actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn.”

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

23%

FUENTES DE INTERNET

9%

PUBLICACIONES

21%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	13%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	5%
3	revistas.sqperu.org.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	revistas.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	innovareacademics.in Fuente de Internet	1%
8	revplantasmedicinales.sld.cu Fuente de Internet	1%

9

jpps.juw.edu.pk

Fuente de Internet

< 1 %

10

phcogres.com

Fuente de Internet

< 1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo