

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y**  
**BIOQUIMICA**



**TESIS**

**“EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS  
HOJAS DE *Munnozia hastifolia* (POEPP.) H.ROB. & BRETTELL  
(ALA DE MURCIÉLAGO) EN RATONES ALBINOS”.**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

BACH. ACHULLI MORAYA, SILVIA.

BACH. BALDEON SEVILLANO, MELVA.

**ASESOR:**

MG. QUEZADA REYES, ANTONIO FERNANDO

**LINEA DE INVESTIGACION:**

FARMACOLOGÍA Y RECURSOS NATURALES

**HUANCAYO – PERÚ**

**2021**

## **DEDICATORIA**

Este presente trabajo le dedico en primer lugar a Dios por guiar mis pasos y mantenerme de pie cada día, darme las fuerzas suficientes y a mis amados padres por su apoyo moral e incondicional por haberme inculcado valores de responsabilidad honestidad y de compromiso para llegar a esta meta.

**Silvia Achulli Moraya**

Agradezco tanto a Dios porque sin él nada de esto hubiera sido posible. Dedicar a mi madre Benedicta Sevillano que siempre estuvo ahí impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera y por enseñarme a valorar los resultados de un gran esfuerzo.

**Melva Baldeon Sevillano**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer de manera muy especial a la Universidad Roosevelt, por habernos permitido ser parte de esta gran casa de estudio y así poder desarrollar nuestras capacidades, conocimientos científicos y formarnos profesionalmente con valores de compromiso y responsabilidad.

A nuestro Asesor de tesis Mg. Quezada reyes, Antonio Fernando por su dedicación, orientación y compromiso; por compartir su experiencia para desarrollar y culminar el presente trabajo.

**PÁGINA DEL JURADO**

**PRESIDENTE:**

**DR. EDGAR ROBERT TAPIA MANRIQUE**

**SECRETARIO:**

**MG. CARLOS MAX ROJAS AIRE**

**VOCAL:**


**MG. ANTONIO FERNANDO QUEZADA REYES**

**SUPLENTE:**

**MG. CARLOS ALFREDO CANO PEREZ**

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Achulli Moraya, Silvia** identificada con el DNI N° 43636944. Expreso en el que toda la información presente en este documento es auténtica y veraz. Me afirmo y me ratifico respecto a lo descrito y por consiguiente firmo el presente documento a los 22 días del mes de junio del 2021.



-----  
Achulli Moraya Silvia

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Baldeon Sevillano, Melva** identificada con el DNI N° 47851346. Expreso en el que toda la información presente en este documento es auténtica y veraz. Me afirmo y me ratifico respecto a lo descrito y por consiguiente firmo el presente documento a los 22 días del mes de junio del 2021.



---

Baldeon Sevillano, Melva.

## INDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	i
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	ii
<b>PÁGINA DEL JURADO</b> .....	iii
<b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD</b> .....	iv
<b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD</b> .....	v
<b>RESUMEN</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. METODOLOGÍA</b> .....	10
<b>2.1. Tipo y diseño de investigación</b> .....	10
<b>2.2. Operacionalización de variables</b> .....	10
<b>2.3. Población, muestra y muestreo</b> .....	10
<b>2.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos</b> .....	11
<b>2.5. Procedimiento</b> .....	11
<b>2.5.1. Estudio botánico</b> .....	11
<b>2.5.2. Estudio químico</b> .....	11
<b>2.5.3. Ensayo Farmacológico</b> .....	16
<b>2.6. Método de análisis de datos</b> .....	18
<b>2.7. Aspectos éticos</b> .....	18
<b>III. RESULTADOS</b> .....	19
<b>3.1 Presentación de resultados</b> .....	19
<b>3.1.1 Ensayo de solubilidad</b> .....	19
<b>3.1.2 Tamizaje fitoquímico</b> .....	20
<b>3.1.3 Cromatografía en capa fina</b> .....	21
<b>3.1.4 Resultados del estudio farmacológico</b> .....	23
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	29
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	31
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	32
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	33
<b>ANEXOS</b> .....	38

## RESUMEN

Se investigó el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago). La especie botánica fue colectada en Mazamari-Junín. Esta planta fue transportada a Lima y luego sus hojas fueron seleccionadas, lavadas, trozadas y secadas en una estufa a 40 °C. Las hojas secas fueron pulverizadas con un pilón sobre un mortero. El polvo seco resultante fue macerado con etanol 96° durante 7 días en un frasco de vidrio color ámbar con agitación mecánica diaria. El macerado resultante se concentró hasta sequedad. El extracto conseguido fue usado para un tamizaje fitoquímico. El extracto también fue usado para determinar su efecto analgésico mediante el ensayo de contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones albinos. Para ello se distribuyeron 30 ratones en 5 grupos de 6 etiquetados como extracto 100, 250 y 500 mg/kg, ácido acetil salicílico 150 mg/kg y control. El tamizaje fitoquímico evidenció la presencia de quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, terpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y saponinas. El ensayo farmacológico evidenció que la administración oral del extracto a 100, 250 y 500 mg/kg mostró 21.04, 57.32 y 67.08 % de efecto analgésico respecto al control, pero la administración de ácido acetil salicílico a 150 mg/kg mostró 81.4%. Las dosis 500 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos.

**Palabras clave:** *Munnozia hastifolia*, extracto, flavonoides y analgésico.



## **ABSTRACT**

The analgesic effect of the ethanolic extract of *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (bat wing) leaves was investigated. The botanical species was collected in Mazamari-Junin. This plant was transported to Lima and then its leaves were selected, washed, cut and dried in an oven at 40 ° C. The dried leaves were sprayed with a pestle on a mortar. The resulting dry powder was macerated with 96 ° ethanol for 7 days in an amber glass jar with daily mechanical agitation. The resulting macerate was concentrated to dryness. The extract obtained was used for phytochemical screening. The extract was also used to determine its analgesic effect by testing abdominal contortions induced with acetic acid in albino mice. For this, 30 mice were distributed in 5 groups of 6 labeled as extract 100, 250 and 500 mg/kg, acetylsalicylic acid 150 mg / kg and control. Phytochemical screening demonstrated the presence of quinones, phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, terpenes,  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated lactones and saponins. The pharmacological trial showed that oral administration of the extract at 100, 250 and 500 mg/kg showed 21.04, 57.32 and 67.08% of analgesic effect with respect to the control, but administration of acetylsalicylic acid at 150 mg/kg showed 81.4%. Doses 500 mg/kg of the ethanolic extract of the leaves of *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (bat wing) have a greater analgesic effect in albino mice.

**Keywords:** *Munnozia hastifolia*, extract, flavonoids and analgesic.

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido fuente de alimentos, abrigo y refugio, pero sobre todo han sido fuente de salud. De esta manera el uso tradicional de plantas con fines medicinales ha permitido el descubrimiento de innumerables principios activos. (1) Entre las diversas enfermedades y síntomas que se pueden tratar con la medicina tradicional se encuentra el dolor. La medicina tradicional herbaria también ha dado origen a sustancias analgésicas. A pesar que el uso tradicional de algunas plantas es efectiva, requieren de validación para lograr un uso más responsable. (2) De esta manera se originó la presente investigación, al validar el uso tradicional del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago). (3)

El dolor es una experiencia que afecta la salud y el estilo de vida del paciente, como también de los demás seres que lo rodean. Hoy en día el dolor, es síntoma evitable que ha cobrado mayor importancia para los profesionales de salud.(4) Ya que el dolor puede alterar la conducta y puede consumir la atención total del paciente. (5) Diversos estudios indican que este problema de salud pública, tiene una prevalencia mayor del 60 por ciento, ya que todas las personas han padecido de dolor en diversas etapas de su vida (6). Según La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, esta lo define como “una experiencia sensorial y emocional desagradable que se relaciona con un daño tisular real o potencial, o que se describe en términos de ese daño” (7). También se le puede considerar como una manifestación clínica de diversas enfermedades, como por ejemplo en las enfermedades neoplásicas; lo que muchas veces causa alteraciones psicológicas y sociales en quien lo padece. Al analizar la epidemiología a nivel mundial, cabe mencionar que el Reino Unido, es el país que con mayor frecuencia publica reportes o estudios referentes al dolor, esto se debe a que realiza encuestas a nivel nacional de manera constante. Por otro lado cada vez sus cifras de prevalencia anual se asemejan a las de otros países como, Estados Unidos, China y otros países de Europa (6). Por ejemplo solo a nivel europeo, el dolor crónico prevalece en el 20 por ciento, y es común en mujeres y personas mayores (8), y solo en España, un 29.6 por ciento de la población no hospitalizada se ve afectada por algún tipo de dolor, siendo el 17.6 por ciento solo dolor crónico (9). Estos datos epidemiológicos demuestran el dolor es un síntoma habitual, en la población a nivel mundial y que no solo lo sufren personas con problemas de salud evidentes, sino también personas aparentemente sanas de cualquier edad. Por otra parte, a nivel económico, el dolor tiene un costo total del

equivalente al 3.0 por ciento del producto bruto interno de toda Europa. Este costo es mucho mayor comparada al de patologías cardíacas o cáncer.(10) A nivel nacional, el dolor es una causa frecuente de asistencia a los centros de salud (11), entre los cuales se relacionan a enfermedades neoplásicas, enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide y generalmente problemas de salud menores, como procesos inflamatorios. A nivel nacional no existen estudios que cuantifiquen la prevalencia de este síntoma. El año 1995 el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) registró que 3.1, 6.9, 1.2 y 3.5 % de las personas presentaban dolor de estómago, cabeza, dental y muscular respectivamente. (12) Pero el 39.68 % de peruanos padece de dolor cervical. (13) Las manifestaciones de dolor más comunes son: dolor lumbar, dolor de cuello, dolor de espalda superior y dolor de espalda inferior (10). Todo lo expresado muestra que existe una alta prevalencia de dolor en el Perú y el mundo, por ser el síntoma más común de numerosas enfermedades, y por eso representa un gasto económico importante. La presente investigación busca demostrar que el extracto etanólico de las hojas *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago), es una alternativa eficaz a considerar en el tratamiento del dolor, además los resultados a obtener podrían servir como fundamento para el desarrollo de nuevos estudios en productos naturales.

Torres et al. 2018 en su investigación “Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp) H.Rob & Bretell (ala de murciélago)”. Plantearon como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp) H.Rob & Bretell (ala de murciélago) y evaluar el efecto antiulceroso a nivel gástrico de las diferentes fracciones obtenidas. El extracto etanólico fue obtenido mediante la técnica del “reflujo”. Posteriormente se realizó el fraccionamiento de dicho extracto obteniendo fracciones etérea, diclorometánica, acetato y acuosa. A todas las fracciones se les realizó tamizaje fitoquímico. Para evaluar efecto antiulceroso se empleó el modelo de úlceras inducidas con indometacina en ratones. Las diferentes fracciones se administraron dosis de 75 mg/Kg y 125 mg/Kg por vía oral. El grado de ulceración gástrica se obtuvo empleando la escala de Jiménez. Como resultado se evidenció la presencia de flavonoides, esteroides, alcaloides y leucoantocianidinas. Con respecto al efecto antiulceroso a partir del extracto etanólico, fracciones éter etílico, diclorometano y acetato de etilo en ratones; la fracción etérea evidenció efecto antiulceroso presentando un 100% de porcentaje de inhibición de la ulceración.(14)

Onoja et al., 2019 en su investigación titulada “Anti-inflammatory and analgesic activities of methanol extract of *Helianthus annuus* Linn. leaf”. Emplearon extracto metanólico de las hojas de *Helianthus annuus* proveniente de Nigeria, con el objetivo de evaluar actividad antiinflamatoria y analgésica. El método empleado para investigar actividad antiinflamatoria fue el edema plantar inducida por formalina y ovo-albúmina; mientras que los modelos contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y el movimiento de la cola por inmersión en agua caliente se usaron para evaluar la actividad analgésica. Las dosis de extracto metanólico utilizadas fueron de 150, 300 y 600 mg/kg. Obteniendo como resultado que a las 3 horas después del tratamiento, la dosis de 300 mg/kg produjo 33.33% y 32.94%, mientras que ASA (fármaco de referencia) produjo una reducción de 36.36% y 35.29% en el volumen de la pata en los modelos de edema de pata inducida por formalina y albúmina de huevo, respectivamente, en comparación con control negativo. Para la actividad analgésica las contorsiones inducidas por ácido acético, en el ASA y el extracto (600 mg / kg) produjeron una reducción de 67.89% y 35.78% en el número de contorsiones respectivamente en comparación con el control negativo. La pentazocina y el extracto (300 mg / kg) causaron un aumento del 67,62% y del 35,24% en el tiempo de reacción al dolor en comparación con el control negativo. Los autores concluyeron que extracto metanólicos de las hojas de *Helianthus annuus* presenta efecto analgésico y antiinflamatorio. (16)

Metrouh-Amir et al. 2018 en su investigación “Evaluation in vivo of anti-inflammatory and analgesic properties of *Matricaria pubescens* alkaloids”. El objetivo fue evaluar las actividades analgésicas del extracto de alcaloides de *Matricaria pubescens* a tres dosis 50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal. El método empleado para evaluar actividad analgésica fue el método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético e inmersión de la cola de los ratones. Como resultado se obtuvo que el extracto de alcaloides inhibía las contorsiones abdominales inducidas por la administración de ácido acético y disminuía el dolor inducido por el calentamiento, en comparación con el control. (17)

Faiza et al., 2019 en su investigación “Determination of thrombolytic, antioxidant and analgesic activity of methanolic extracts of *Rudbeckia hirta*”. Este estudio evaluó la actividad trombolítica, antioxidante y analgésica del extracto de planta de *Rudbeckia hirta*. La actividad antioxidante se midió empleando el método del reactivo Folin-Ciocalteu (FCR)

o fenol de Folin reactivo o reactivo Folin-Denis, también llamado equivalencia de ácido gálico método (GAE) en el que el contenido fenólico total del extracto de metanol estaba determinado. El potencial analgésico del extracto metanólico se probó utilizando el modelo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones. La actividad analgésica del extracto vegetal fue significativa ( $p < 0.05$ ) a la dosis de 500 mg/kg de peso corporal en comparación con los animales de control; sin embargo, la actividad fue menor que la del diclofenaco Na (estándar). Los autores concluyeron que el extracto metanólico de las hojas de *Rudbeckia hirta* tiene un efecto moderado. (18)

Guo et al., 2019 en su investigación “Phytochemical Analysis, Antioxidant and Analgesic Activities of *Incarvillea compacta* Maxim from the Tibetan Plateau”. Se buscó determinar los componentes fitoquímicos, la actividad antioxidante y analgésica de *Incarvillea compacta*. Se realizó análisis cualitativos por cromatografía líquida-espectrometría de masas y análisis cuantitativos del contenido total de fenoles, flavonoides y alcaloides de diferentes extractos de *I. compacta* Maxim. El método para evaluar actividad analgésica fue el método de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, dolor inducido con formalina y el ensayo de la placa caliente a las dosis de 15, 30 y 60 mg/kg. Como resultado se obtuvo que el extracto de metanol tenía el mayor contenido de los diversos ingredientes. Se identificaron un total de 25 componentes, de los cuales los compuestos 1-23 se encontraron por primera vez en esta planta. El extracto de agua tenía la mayor capacidad para eliminar los radicales libres en la prueba de antioxidantes. El extracto de agua tuvo efectos analgésicos dependientes de la dosis en la primera y segunda fase de una prueba de formalina. La latencia del dolor de una prueba de placa caliente se incrementó con el extracto de agua cuando la dosis fue mayor o igual a 30g/kg. El extracto de agua disminuyó significativamente la cantidad de retorcimientos en una forma dependiente de la dosis en comparación con el grupo control en la prueba de retorcimiento inducida por ácido acético. Estos resultados mostraron que *I. compacta* Maxim es un nuevo agente analgésico (19)

Los seres vivos requieren asimilar y transformar una gran cantidad de compuestos orgánicos para crecer y reproducirse, las vías involucradas en este proceso se denominan rutas metabólicas. Las rutas metabólicas primarias tienen una importancia fisiológica, ya que son imprescindibles para la formación de tejidos y suministro de energía para todo ser vivo. A diferencia del metabolismo secundario, que se propicia en respuesta al medio ambiente. (20) El metabolismo secundario produce sustancias denominadas metabolitos secundarios.

Estos no poseen función fisiológica para el ser vivo que la produce, pero gran parte de ellos poseen efecto farmacológico. (21) A la fecha se reconocen tres rutas metabólicas: Acetato, shikimato y mevalonato.

Además de los metabolitos primario que son producto de procesos químicos que intervienen de manera directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las especies vegetales. Las plantas producen ciertos compuestos que son característicos para un determinado grupo taxonómico y cuya función no está relacionada con procesos vitales para la célula que lo biosintetiza, pero que si tiene significancia para el organismo productor como un todo. A estos tipos de compuestos se les denomina metabolitos secundarios. (22)

Los terpenos son metabolitos secundarios que derivan principalmente de la ruta biogénica del ácido mevalónico. Estos compuestos químicos tienen como característica uniones cabeza-cola entre isoprenos. (23)

Los flavonoides vienen a ser metabolitos secundarios polifenólicos, de manera común con un grupo cetona. Los flavonoides se sintetizan mediante la vía metabólica del fenilpropano, en la cual el cumaril-SCoA se forma a partir aminoácido fenilalanina que, junto con el malonil-CoA, crean unas sustancias llamadas chalconas que van a constituir el esqueleto para la biosíntesis de los flavonoides y antocianinas. Entre los metabolitos secundarios más distribuidos en el reino vegetal, se encuentran los flavonoides. Estos metabolitos tienen un núcleo  $\gamma$ -benzopirona. (24)

Estos compuestos son metabolitos secundarios, polifenólicos que se encuentran en un gran número de plantas. Tienen como característica ser solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3000. Los taninos hidrolizables se producen mediante la vía del ácido shikímico, el cual conduce a la producción de ácido gálico, mientras que los taninos condensados derivan biogénicamente del metabolismo de los flavonoides. (25)

La especie vegetal *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) es un arbusto que pertenece a una de las más cuantiosas familias, *Asteraceae*. Esta especie habita desde Costa Rica, hasta Argentina; pasando por países como Venezuela, Colombia, Perú, entre otros. (26) En nuestro país habita en lugares con climas tropicales como Loreto, Huánuco, además de Cusco y Puno (cejas de Selva). Diversas poblaciones le atribuyen una amplia variedad de propiedades curativas, como cicatrizante, analgésico, antirreumático, en

cistitis, infecciones urinarias y gástricas, antiinflamatorio, y además de coadyuvante en el tratamiento del cáncer.(3)

El dolor ha sido definido por IASP como "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial, o descrito en términos de dicho daño". Este concepto implica un papel fisiológico para el dolor que funciona como un anillo de alarma para evitar o limitar el daño tisular, cumpliendo así una función esencial de defensa vital.(27) Pero no solo el dolor se limita a parámetros fisiológicos, en muchas ocasiones afecta en todos los ámbitos de la vida de la persona, como es el estado psicológico y social. El dolor se clasifica por el tiempo en que perdura, la intensidad y el mecanismo fisiopatológico etiológico. Por el tiempo de duración la IASP lo clasifica en: Agudo y crónico.(28) En la cual se define al dolor agudo, como aquella manifestación que perdura por un determinado tiempo, aproximadamente 3 meses; y el dolor crónico comparado con el dolor agudo, dura por un tiempo mayor a 3 meses.

Pero también existe una clasificación que va de acuerdo al estado fisiopatológico que lo genere, aquí se encuentran el dolor nociceptivo y dolor neuropático.

El proceso que abarca desde el estímulo doloroso es decir desde el origen del dolor hasta la percepción del mismo comprende cuatro procesos: Transducción, transmisión, modulación y percepción.(29)

La transducción es el proceso en el cual, el estímulo doloroso es convertido en una señal eléctrica, a nivel de los nociceptores, los cuales son receptores que captan el dolor. La transmisión, es el proceso, que a continuación permite la propagación de la señal eléctrica (potencial de acción) desde los nociceptores hasta las vías del sistema nervioso periférico (SNP) y sistema nervioso central (SNC), para que realice el respectivo procesamiento de la información.(30) La modulación, consiste en evaluar la intensidad del estímulo o impulso doloroso a través de distintos niveles, es en este proceso en donde se producen las respuestas vegetativas, motoras y también emocionales, además es donde también la persona se hace consciente, es decir aparece la sensación de dolor.(30) La percepción, es donde interviene el ámbito psicológico del paciente, en el cual crea la experiencia emocional y subjetiva que se percibe como dolor. Se da en estructuras del SNC superiores.

Los receptores opioides se encuentran dentro del grupo de receptores acoplados a proteínas G, cuyos sustrato son los opioides endógenos (dinorfinas, encefalinas, endorfinas,

endomorfina, nociceptina). Estos receptores vienen a ser los sitios específicos con los cuales van a interactuar los agonistas opioides tanto endógenos como exógenos, así como también los antagonistas para poder exhibir sus acciones.(31) En el ser humano, se han identificado cuatro grupos de receptores opioides, entre los que tenemos, a los receptores mu, los cuales tienen como ligandos endógenos naturales a la beta-endorfina y las endomorfina, su estimulación produce analgesia, miosis, depresión respiratoria, bradicardia, etc.

Los receptores kappa, tienen como ligando naturales a la Dinorfina, al igual que los receptores mu, se encuentra localizados en el SNC y en las capas profundas de la corteza cerebral; su activación produce miosis, sedación general, depresión de reflejos, etc.

Los receptores delta, tienen como endógenos naturales a las encefalinas; estos receptores tienen un papel de importancia en la depresión respiratoria y parecen que no intervienen en la analgesia. Por último, los receptores NOP o N/OFQ, tienen a la nociceptina como ligando natural, posee la característica de tener una acción dual, la cual dependerá del nivel de acción. Así, en la médula producirá acciones analgésicas, mientras que en regiones supraespinales poseerá características hiperalgésicas. (32)

Para la obtención de nuevos medicamentos para tratar al dolor es necesario hacer ensayos farmacológicos. Estos ensayos pueden ser por métodos *in vivo* e *in vitro*. Para ello, se requiere el uso de animales de experimentación a los que es indispensable inducir a un estado que bioquímicamente sea equivalente al dolor y uno de estos agentes inductores es el ácido acético. Este es un ácido carboxílico conformado por dos carbonos. (33) El ácido acético estimula a los macrófagos y mastocitos a producir factor de necrosis tumoral- $\alpha$  e interleuquina  $1\beta$ . (34) El ácido acético es un agente irritante que tiene la capacidad de estimular la producción de principalmente prostaglandina  $I_2$  además de prostaglandina  $E_2$  y mucho menor medida leucotrieno  $B_4$ , todos mediadores del dolor.(35) El ácido acético es una sustancia capaz de interactuar con los receptores de angiotensina 2, esta interacción está relacionada con la emisión de señales nerviosas del dolor (nocicepción). (36)

El tratamiento farmacológico para el dolor consiste en el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y opiáceos.

Los fármacos AINEs inhiben las enzimas ciclooxigenasas tipo 1 y 2 (COX-1 y COX-2). Estas enzimas catalizan la conversión de ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos (mediadores de la inflamación y el dolor). (37)



Este grupo farmacológico comprende a fármacos como ibuprofeno, dexibuprofeno, ketoprofeno, diclofenaco, aceclofenaco, ketorolaco, metamizol, naproxeno, meloxicam, piroxicam, celecoxib, rofecoxib y etoricoxib. (38)

Por lo anteriormente expresado, en la presente investigación se formuló resolver el siguiente problema ¿Cuál será el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos? Los problemas específicos son: ¿Cuáles serán los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago)?, ¿Existirá una dosis del extracto del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos? Y ¿El extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) presentará efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos?

La medicina tradicional herbaria fue y sigue siendo una opción terapéutica en países desarrollados pero única opción en algunas partes del planeta. (2)

El dolor es un síntoma común en numerosas enfermedades y la intensidad puede modificar su comportamiento y puede consumir la atención total del paciente. (5) Por esta razón, aliviarla puede conferir mejor calidad de vida a pacientes hiperalgésicos. (39)

Las plantas han dado origen a numerosos medicamentos como los alcaloides atropina y escopolamina que fueron extraídos de *Atropa belladonna*. (40) Pero a su vez estas sustancias son responsables de los efectos tóxicos que puede producir. (41) Es posible que el uso popular no sea un tratamiento eficaz y/o seguro, por esa razón es necesario validar los usos tradicionales de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) y cada planta medicinal.

El tratamiento farmacológico tiene un costo que puede no ser accesible a los individuos de los diferentes estratos sociales, por eso es necesario dar a conocer las alternativas terapéuticas a base de recursos naturales, de bajo costo, como las plantas medicinales. (38)

La población interesada en la medicina tradicional no solo comprende a las personas de bajos recursos sino también a las personas con recursos suficientes para un tratamiento farmacológico, esta evidenciado que existe un alto grado de aceptación de la medicina tradicional herbaria en países en vías de desarrollo y desarrollados. (42)

La validación de este conocimiento popular beneficia a la medicina tradicional en el Perú ya que valida su uso. Los resultados positivos de la presente investigación pueden inspirar futuras investigaciones para estandarizar el extracto o inspirar investigaciones que logren aislar compuestos con efecto analgésico.

Sin lugar a dudas, el dolor es uno de los síntomas más comunes en los entornos es por eso que, a través de este trabajo de investigación, se busca validar el uso tradicional de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago), como tratamiento contra el dolor, lo que conllevaría más adelante al aislamiento del o los metabolitos secundarios responsables de la actividad analgésica, permitiendo la salida al mercado de un nuevo medicamento o una nueva generación de medicamentos analgésicos e inspirar a otros a seguir con la línea de investigación en productos naturales.

Por todo lo expresado se han planteado el objetivo de Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos. Y los objetivos específicos: De determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago), determinar una dosis del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos y determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) presenta efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos. En este sentido, se planteó la hipótesis general que si existe efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos. Las hipótesis específicas son si existen varios tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago); Si existe una dosis del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos y el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) si presenta efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1. Tipo y diseño de investigación

La investigación planteada en este documento es de tipo experimental ya que se manipula a la variable independiente para evidenciar la relación de tipo causa-efecto con la variable dependiente. Es transversal porque la medición de las variables se hicieron en un único momento de la investigación.(43)

Esta investigación usó un diseño de tipo experimento puro ya que la investigación usó un grupo control para cuantificar el efecto farmacológico y que el valor numérico no se debe a una causa diferente a la de su interacción con la variable independiente. (43)

### 2.2. Operacionalización de variables

Tabla 1. Tabla de operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
<b>INDEPENDIENTE</b> <b>Extracto etanólico de</b> <b><i>Munnozia hastifolia</i></b> <b>Poepp.) H.Rob. &amp;</b> <b>Brettell (ala de</b> <b>murciélago)</b>	Fitoquímica	Reacciones de coloración y precipitación.	Ficha de observación
<b>DEPENDIENTE</b> <b>Efecto analgésico</b>	Farmacológico	Número de contorsiones abdominales	Ficha de observación

Fuente: Elaboración propia

### 2.3. Población, muestra y muestreo

#### 2.3.1 Población

15 arbustos de la especie *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) procedente del distrito de Mazamari, provincia de Satipo, región Junín.

Ratones albinos cepa balb/c.

### **2.3.2 Muestra**

375.8g de las hojas frescas de la especie *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell.

30 ratones albinos cepa balb/c provenientes del Instituto Nacional de Salud

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

### **2.4.1. Técnicas de recolección de datos**

Para la recolección de datos se utilizará la técnica de observación estructurada no participante individual en el laboratorio.

### **2.4.2. Instrumento de recolección de datos**

El instrumento de recolección de datos empleado en la presente investigación fue una ficha de observación *ad hoc*.

## **2.5. Procedimiento**

### **2.5.1. Estudio botánico**

#### **Recolección**

Las hojas frescas de la especie botánica *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) se recolectaron en el distrito de Mazamari, provincia de Satipo, región Junín – Perú. La recolección se ejecutó por la mañana en época de floración, para poder tener la mayor cantidad de información física de la muestra para su identificación taxonómica. (23). Las hojas se obtuvieron cortando las ramas con ayuda de una tijera. (23) Las hojas frescas recolectadas serán transportadas en un recipiente absorbente y agujereado hasta llegar a Lima, para evitar la acumulación de humedad. (23)

#### **Identificación taxonómica**

La muestra vegetal fue analizada para su clasificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### **2.5.2. Estudio químico**

#### **Tratamiento y extracción**

375.8 g de hojas frescas recolectadas fueron seleccionadas, limpiadas y desinfectadas para que posteriormente, sean secadas en una estufa a 40° C con aire circulante. (23) Las hojas secas resultantes se trituraron con un pilón sobre un mortero de porcelana. Luego se maceró

los 195.4 g de polvo seco de las hojas pulverizadas con 2 L de etanol 96° por 7 días con agitación mecánica dentro de un recipiente de vidrio color topacio. El líquido que resultó de la extracción posteriormente fue concentrado con un rotavapor a 40° C, hasta conseguir un volumen aproximado de 40 mL. El líquido concentrado fue secado en una estufa a 40° C con aire circulante y se obtuvo 12.5 g de extracto.

### **Ensayo de solubilidad**

Se distribuyeron 50 mg de extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en 09 tubos de ensayo diferentes para luego verter 0.25 ml de disolvente en el orden siguiente: ciclohexano, diclorometano, cloroformo, n-butanol, acetato de etilo, propanol, etanol y agua. (44)

El ensayo de solubilidad propondrá que disolventes se usarán como vehículo de la solución del extracto para su posterior administración oral.

### **3.4.2.3 Tamizaje fitoquímico**

La técnica usada fue tamizaje fitoquímico para la determinación de los tipos de metabolitos secundarios que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) *será* por reacciones de coloración y precipitación. (24)

### **Metabolitos Secundarios**

#### **Reacción Bornträger**

Se extrajo con 0.25 ml de éter de petróleo a partir de 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) y se vertió 0.25 ml de NaOH al 5 % a la solución resultante. (24)

#### **FeCl<sub>3</sub>**

Se vertió 2 gotas de una solución de FeCl<sub>3</sub> al 1 % a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Reacción de Shinoda**

Se vertió 2 gotas de HCl [ ] a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol con una granalla de magnesio. (24)

### **NaOH**

Se vertió 2 gotas de NaOH al 10 % a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Gelatina**

Se disolvieron 1 g de gelatina en 100 ml de agua. Se vertió 2 gotas de esta mezcla a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Gelatina-sal**

Se disolvieron 1 g de gelatina y 10 g de NaCl en 100 ml de agua. Se vertió 2 gotas de esta mezcla a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Dragendorff**

Se mezcló 8 g  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 20 mL  $\text{HNO}_3$  con 27.2 g KI en 50 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Dejar en reposo decantar el sobrenadante para diluir a 100 mL. Se vertió 2 gotas de la solución resultante a un tubo de ensayo 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol que previamente fue acidificado con 0.25 mL de HCl 10 %. (24)

### **Wagner**

Se disolvieron 1.27 g  $\text{I}_2$  y 2 g KI en 100 mL de agua. Se vertieron 2 gotas de este reactivo resultante a un tubo de ensayo 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol que previamente fue acidificado con 0.25 mL de HCl 10 %. (24)

### **Mayer**

A: Disolver 1,36 g HgCl<sub>2</sub> en 60 mL de H<sub>2</sub>O.

B: Disolver 5 g KI en 10 mL H<sub>2</sub>O.

Mezclar A con B y luego diluir hasta 100 mL. Se vertió a un tubo de ensayo 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol que previamente fue acidificado con 0.25 mL de HCl 10 %.  
(24)

### **Liebermann burchard**

Se vertieron 3 gotas de ácido acético glacial y 3 mL de una mezcla de anhídrido acético con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50:1) a un tubo de ensayo 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Baljet**

Se mezcla ácido pícrico al 1 % en etanol con NaOH al 10 % en partes iguales. Se vertió 2 gotas del reactivo resultante a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de etanol. (24)

### **Espuma**

Un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) se disolvió con 0.25 ml de agua y se agitó vigorosamente y se evaluó la formación de espuma. (24)

### **Metabolitos Primarios**

#### **Benedict**

A: Mezclar 60 mL de agua con 17.3 g citrato de sodio y 10 g de carbonato de sodio.

B: Mezclar 15 mL de agua con 1.73 g de sulfato de cobre penta hidratado.

Mezclar ambas soluciones y aforar hasta 100 mL de agua. Se vertió 0.25 mL de esta solución a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de agua. (45)

### **Fehling**

A: Aforar a 50 mL de agua, la mezcla de, 17.5 g de nitrato de sodio potasio y 5 g de hidróxido de sodio.

B: 3.5 g de sulfato de cobre aforar a 50 mL de agua.

Se vertió 0.25 mL de esta solución A y B a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de agua. (45)

### **Molish**

Se vertió 2 gotas de  $\alpha$ -naftol al 1 % en etanol a un tubo de ensayo con 25 mg de extracto de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) disueltos con 0.25 ml de agua. Luego se vertió 1 mL de ácido sulfúrico. (45)

### **3.4.2.3 Cromatografía en capa fina**

Se disolvió una alícuota de extracto en el borde de una placa Petri con 2 mL de etanol 96°. La solución obtenida fue adsorbida en dos puntos a 0.5 cm del borde inferior de 3 cromatofolios con silicagel 60 F<sub>254</sub> con ayuda de un capilar. Luego se diluyeron con las siguientes fases móviles. (45)

Cromatofolio 1: Butanol: ácido acético: agua 4:1:5 (24)

Cromatofolio 2: Benceno: acetato de etilo 1:1 (46)

Cromatofolio 3: Cloroformo: éter etílico: agua 3:1:1 (47)

Luego de que fueron eluidos se analizaron sus cromatogramas resultantes al visible y a radiación ultravioleta a 254 nm y luego fueron revelados con un aspersador con los siguientes reveladores:

Cromatofolio 1: Vapores de amoníaco



Cromatofolio 2: Wagner. Elaborado con 0.1 g iodo + 1 g ioduro de potasio en 5mL de agua + 0.2 mL ácido acético y enrazado a 10 mL de agua

Cromatofolio 3: Liebermann-Burchard. Elaborado con 1 mL ácido sulfúrico + 1 mL anhídrido acético + 10 mL etanol

Luego los cromatofolios 1 y 3 fueron analizados bajo radiación ultravioleta a 254 nm.

### **2.5.3. Ensayo Farmacológico**

#### **Aclimatación**

Los ratones de peso entre 30-42 gramos fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS). Los animales de experimentación serán ambientados durante 48 horas con alimentación e hidratación *ad libitum*. Los animales de experimentación tendrán acceso a 12 horas de luz y 12 horas con ausencia de la misma a temperatura de  $21\pm 2$  °C. (48)

#### **Ensayo analgésico**

El ensayo se fundamenta en medir el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones. (49) El estudio se basa en el método descrito por Taber. (50) El dolor se produce mediante la inyección de ácido acético en la cavidad peritoneal de los ratones.

Se seleccionaron los animales según el peso corporal de los ratones (30-42 g)

Se agruparán los ratones de modo que cada grupo contenga 6 ratones albinos machos.

- Grupo I: Control (agua destilada)
- Grupo II: Extracto 100 mg/kg
- Grupo III: Extracto 250 mg/kg
- Grupo IV: Extracto 500 mg/kg
- Grupo V: Ácido acetil salicílico (150 mg/kg)

Los animales reaccionan con movimientos característicos, como la extensión de la extremidad posterior, la constricción abdominal y el movimiento de torsión del tronco llamado contorsión abdominal.

Después de 30 minutos de administración del fármaco o sustancias experimentales, se inyectará 0,1 ml/10 g de una solución de ácido acético al 0.6 % por vía intraperitoneal a todos los grupos de animales para inducir las contorsiones abdominales.

Luego se registrarán el número de contorsiones que ocurren entre 0 y 30 minutos después de la inyección del agente inductor.

#### Elaboración de las soluciones que se administrarán

- Agente inductor: Ácido acético glacial 0.6 % v/v.

$$99.9 \times V_1 = 0.6 \times 100$$

$$V_1 = 0.6 \text{ mL}$$

Se disolvió 0.6 mL ácido acético glacial (99.9%) hasta lograr un volumen de 100 mL con agua destilada. Esta solución posteriormente será usada como agente inductor a la dosis de 0.1 mL/10g.

- Fármaco referencia: Ácido acetil salicílico 150 mg/kg

Tabla 2. Ecuaciones usadas para calcular la elaboración de las soluciones de extracto.

<b>150 mg</b>	----- <b>1000 g</b>	<b>6.195 mg</b>	----- <b>0.4 mL</b>
<b>x</b>	----- <b>41.3 g</b>	<b>x</b>	----- <b>10 mL</b>
<b>x = 6.195 mg</b>		<b>x = 154.875 mg</b>	

Fuente: Elaboración propia

Se preparará una solución de ácido acetil salicílico con 154 mg en 10 mL de agua destilada para luego ser administrado a la dosis 150 mg/kg.

- Solución de extractos para administración oral:

Tabla 3. Ecuaciones usadas para calcular la elaboración de las soluciones de extracto.

<b>Para la dosis 100 mg/kg</b>			
<b>100 mg</b>	----- <b>1000 g</b>	3.9 mg	-----0.3 mL
<b>x</b>	----- <b>39 g</b>	<b>x</b>	-----10 mL
<b>x = 3.9 mg</b>		<b>x = 130 mg</b>	
<b>Para la dosis 250 mg/kg</b>			
<b>250 mg</b>	----- <b>1000 g</b>	9.2 mg	-----0.3 mL
<b>x</b>	----- <b>36.8 g</b>	<b>x</b>	-----10 mL
<b>x = 9.2 mg</b>		<b>x = 306.67 mg</b>	
<b>Para la dosis 500 mg/kg</b>			
<b>500 mg</b>	----- <b>1000 g</b>	19.5 mg	-----0.3 mL
<b>x</b>	----- <b>39 g</b>	<b>x</b>	-----10 mL
<b>x = 19.5 mg</b>		<b>x = 650 mg</b>	

Fuente: Elaboración propia

Resultado de la preparación de las soluciones de los extractos de la *Munnozia Hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago).

Se preparará 3 soluciones de extracto con 130, 306.67 y 650 mg en 10 mL, con agua destilada (disolvente resultante del ensayo de solubilidad), cada una respectivamente.

Para la posterior administración a las dosis 100, 250 y 500 mg/kg.

## **2.6. Método de análisis de datos**

La recolección de datos será registrada en una ficha de observación y luego de ser organizadas y enumeradas se ingresaron la base de datos en Microsoft Excel en su versión de acceso. La información que se recolectará se analizará con el paquete estadístico SPSS 22 (*Statistical Package for the Social Science*) en su versión de acceso. Se usará estadística descriptiva e inferencial para establecer la distribución de los datos y la evaluación de la docimacia.

## **2.7. Aspectos éticos**

La información recolectada será usada exclusivamente para un fin académico.

La investigación se ejecutará siguiendo los lineamientos bioéticos pertinentes según la normativa nacional.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 Presentación de resultados

##### 3.1.1 Ensayo de solubilidad

Los resultados del ensayo de solubilidad se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago).

Tubo N°	Volumen de disolvente (mL)	Disolvente (mL)	Resultado
1	0.25	Ciclohexano	-
2	0.25	Diclorometano	-
3	0.25	Cloroformo	+
4	0.25	N-butanol	++
5	0.25	Acetato de etilo	+++
6	0.25	Propanol	++
7	0.25	Etanol	+++
8	0.25	Metanol	+++
9	0.25	Agua	+++

Fuente: Elaboración propia

El ensayo de solubilidad realizado al extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) evidenció mayor que el extracto es más soluble en disolventes polares y medianamente soluble en disolventes de mediana polaridad como butanol.

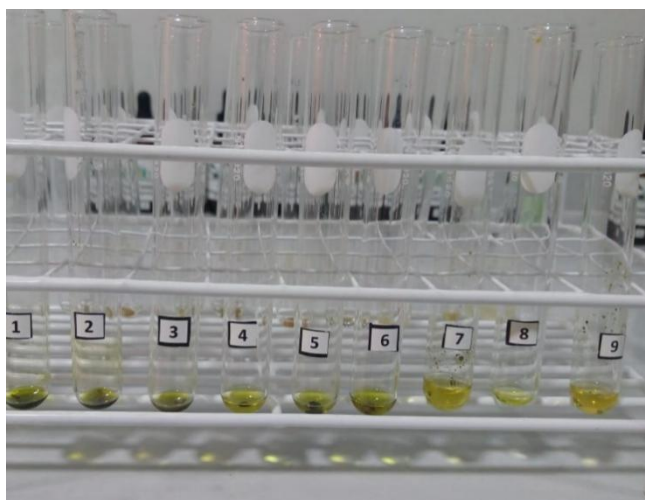


Figura 1. Resultados del ensayo de solubilidad

Fuente: Elaboración propia

### 3.1.2 Tamizaje fitoquímico

Los resultados del tamizaje fitoquímico se muestran a detalle en la siguiente tabla.

Tabla 5. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago).

Metabolitos Secundarios				
Ensayos	Metabolito	Resultado	Interpretación	
1 Bortrager	Quinonas	Rojo, fase acuosa	+++	
2 FeCl <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos	Azul	+++	
3 Shinoda	Flavonoides	Rojo	+++	
4 NaOH 10%	Antocianinas	Naranja	-	
5 Gelatina	Taninos	Sin ppdo.	-	
6 Gelatina-sal	Taninos	Sin ppdo.	-	
7 Dragendorff	Alcaloides	Ppdo rojo	+	
8 Wagner	Alcaloides	Ppdo crema	+	
9 Mayer	Alcaloides	Ppdo marrón	+	
10 Liebermann-Burchard	Terpenos-esteroides	Verde vía rojo	+++	
11 Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	Naranja	++	
12 Espuma	Saponinas	Espuma	+++	
Metabolitos primarios				
13 Benedict	Azúcares reductores	Ppdo rojo	++	
14 Fehling	Azúcares reductores	Ppdo rojo	++	
15 Acetato de plomo	Aminoácidos azufrados	Ppdo negro	++	
16 Molish	Carbohidratos	Anillo violeta	++	

(-): Leve; (+): Leve; (++) : Moderada y (+++): Abundante

Fuente: Elaboración propia

El tamizaje fitoquímico realizado en el extracto etanólico de las hojas *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell evidenció la presencia principalmente de quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, terpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y saponinas además de aminoácidos azufrados, azúcares reductores y otros carbohidratos.

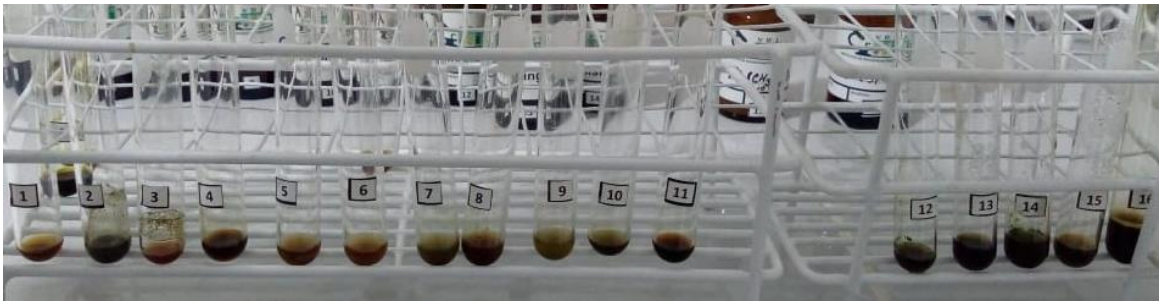


Figura 2. Resultados del tamizaje fitoquímico

Fuente: Elaboración propia

### 3.1.3 Cromatografía en capa fina

Los cromatogramas que mostró el cromatofolio 1 fueron los siguientes

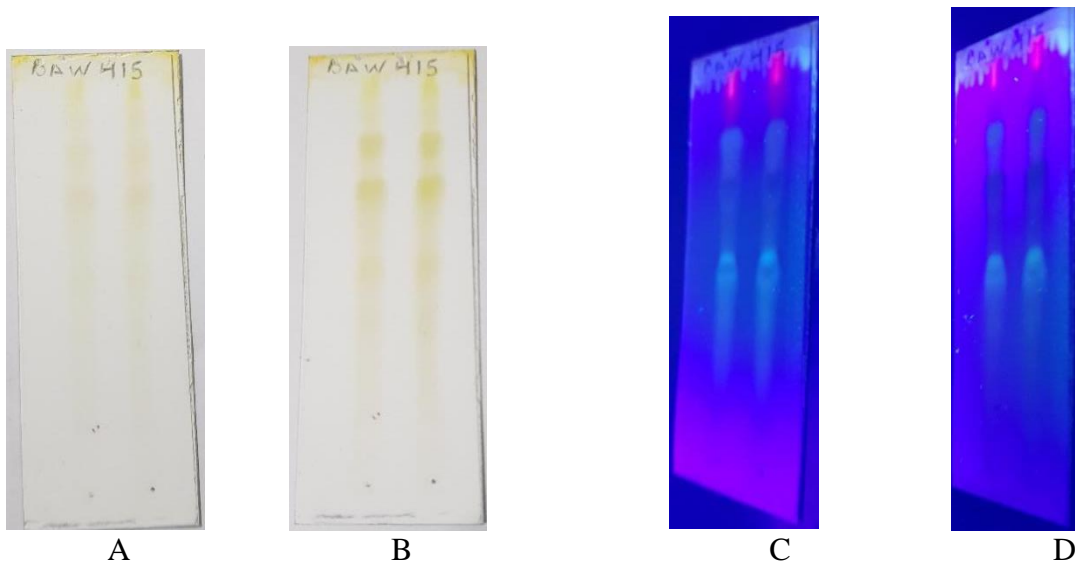


Figura 3. Cromatogramas del cromatofolio 1.A

En la figura anterior A es el cromatograma observado al visible inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y muestra manchas de color verde-amarillo. C es el cromatograma observado bajo radiación UV a 365 nm inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y muestra 1 mancha de color azul, celeste y rojo con factores de retención (RF) de 0.67, 0.8 y 0.94 respectivamente. B es el cromatograma observado al visible inmediatamente después de ser revelado con vapores de amoniaco y muestra manchas de color verde con RF 0.67, 0.8 y 0.94. D es el cromatograma observado bajo radiación UV a 365 nm inmediatamente después de que el cromatofolio que fue revelado con vapores de amoniaco y muestra muestra cambios de intensidad de color del azul y celeste con RF 0.67 y 0.8, que es un comportamiento característico de flavonoides. (24)

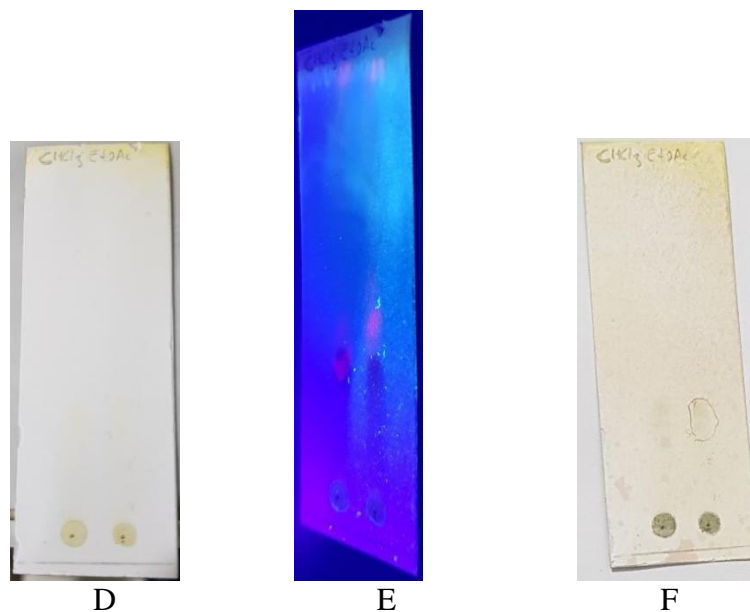


Figura 4. Cromatogramas producidos por el cromatofolio 2.

En la figura anterior D es el cromatograma observado al visible inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y muestra manchas de color amarillo. E es el cromatograma observado bajo radiación UV a 365 nm inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y muestra una mancha color naranja con RF 0.35. F es el cromatograma observado al visible después de que el cromatofolio fue revelado con el reactivo Wagner y mostró una mancha marrón con RF 0.35, que es un comportamiento característico de alcaloides. (24)

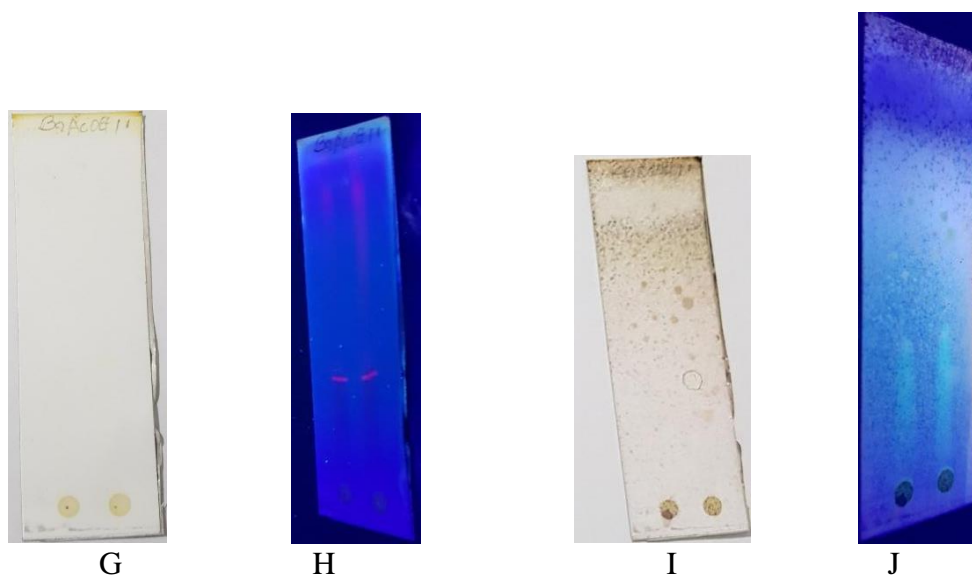


Figura 5. Cromatogramas producidos por el cromatofolio 3.

En la figura anterior G es el cromatograma observado al visible inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y no muestra manchas. H es el cromatograma observado bajo radiación UV a 365 nm inmediatamente después de que el cromatofolio fue eluido y

muestra una mancha de color naranja con RF 0.4. J es el cromatograma observado bajo radiación UV a 365 nm después de ser revelado con el reactivo liebermann-burchard y calentado y muestra una mancha de color azul con RF 0.4, esta es una característica de triterpenos y/o esteroides. (24)

### 3.1.4 Resultados del estudio farmacológico

Los animales de experimentación usados en el ensayo farmacológico agrupados al azar en 5. La siguiente tabla muestra la distribución de los ratones usados.

Tabla 6. Peso de los animales de experimentación

Ratón N°	Peso (g)				
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
1	35.1	36.9	32.4	35.1	41.3
2	34.8	37.2	35.8	39.0	38.3
3	34.6	32.1	33.8	31.6	36.2
4	33.8	38.3	36.8	34.3	33.4
5	35.2	39.0	36.2	36.0	34.6
6	33.4	35.0	36	36.8	32.7

Fuente: Elaboración propia

Después de que se administró el agente inductor (ácido acético 0.6 %) por vía intraperitoneal a todos los animales de experimentación se registró en el siguiente cuadro el número de contorsiones abdominales producido por cada animal de experimentación.



Tabla 7. Resultados del ensayo farmacológico

Ratón N°	Contorsiones abdominales				
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
<b>1</b>	55	40	28	19	12
<b>2</b>	62	45	21	18	8
<b>3</b>	58	45	20	20	13
<b>4</b>	65	46	29	18	11
<b>5</b>	59	43	21	17	9
<b>6</b>	59	40	21	18	8
<b>Media</b>	54.67	43.17	23.33	18.33	10.17

Fuente: Elaboración propia

La tabla anteriormente descrita expresa el número de contorsiones abdominales producido en los ratones de cada grupo control y experimental del ensayo farmacológico. Se evidencia un menor número de contorsiones en el grupo V (control positivo) seguido de los grupos II, III y IV (Extracto a 100, 250 y 500 mg/kg).

#### 4.1.3.1 Porcentaje de efecto analgésico

Para determinar el porcentaje de efecto analgésico se requiere de la siguiente formula:

$$\%EA = \frac{NCC - NCE}{NCC} \times 100$$

% EA: % de efecto analgésico

NCC: N° de contorsiones producidos por el grupo control

NCE: N° de contorsiones producidos por el grupo experimental

El porcentaje de efecto analgésico producido por los grupos experimentales (grupo II, III y IV) y control positivo (grupo V) se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 8. Porcentaje de efecto analgésico

<b>Grupos</b>	<b>Media de las contorsiones</b>	<b>Número de ratones</b>	<b>% de efecto analgésico</b>
<b>I</b>	54.67	6	-
<b>II</b>	43.17	6	21.04
<b>III</b>	23.33	6	57.32
<b>IV</b>	18.33	6	67.08
<b>V</b>	10.17	6	81.4

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.4 Pruebas de normalidad y de homogeneidad de varianzas

Para escoger una prueba estadística adecuada para la contrastación de esta hipótesis se requiere determinar si existe distribución normal y si existe homogeneidad en las varianzas.

Tabla 9. Prueba de distribución normal

	<b>Tratamiento</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>Contorsiones abdominales</b>	Control	,961	6	,830
	Ext. 100 mg/kg	,849	6	,154
	Ext. 250 mg/kg	,739	6	,055
	Ext. 500 mg/kg	,915	6	,473
	ASA 150 mg/kg	,892	6	,331

ASA: Ácido acetil salicílico

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los resultados de todos los grupos empleados en el ensayo analgésico presentan una distribución normal, es decir que todos los grupos presentan un p-valor mayor a 0.05.

Tabla 10. Prueba de homogeneidad de varianzas

<b>Estadístico de Levene</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>Sig.</b>
<b>3,469</b>	4	25	,052

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los resultados de todos los grupos empleados en el ensayo analgésico presentan homogeneidad en sus varianzas, es decir un p-valor mayor a 0.05.

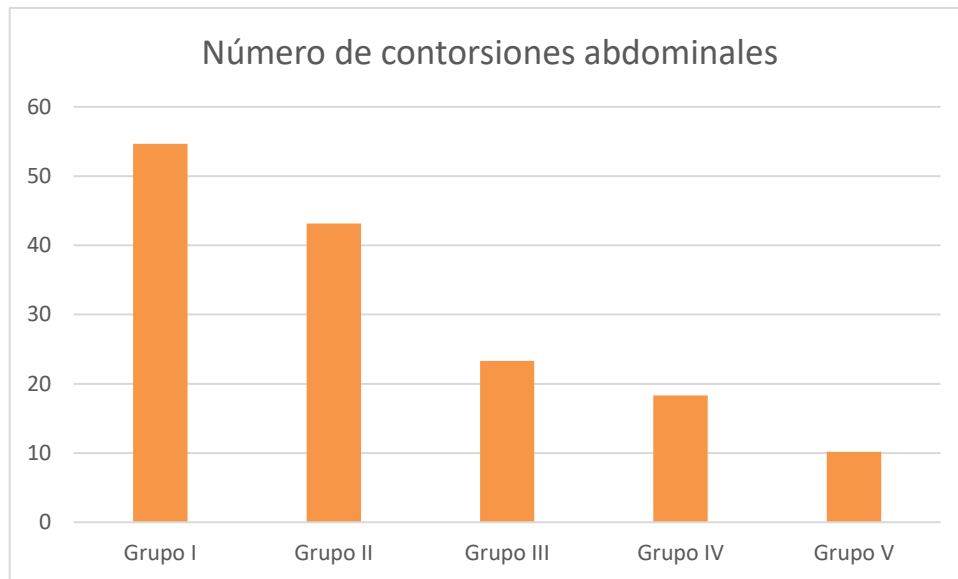


Figura 6. Diagrama de barras de los resultados del ensayo farmacológico

Fuente: Elaboración propia

La figura anterior muestra la diferencia entre la la cantidad de contorsiones abdominales producidas en el grupo control negativo y en los grupos experimentales, a los que se les administró el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) *por* vía oral a las dosis de 100; 250 y 500 mg/kg.

Tabla 11. Comparaciones múltiples por el test de Dunnet

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
<b>Ext. 100 mg/kg</b>	Control	- 16,50000*	1,64789	,00 0	- 20,795 9	- 12,204 1
<b>Ext. 250 mg/kg</b>	Control	- 36,33333*	1,64789	,00 0	- 40,629 2	- 32,037 4
<b>Ext. 500 mg/kg</b>	Control	- 41,33333*	1,64789	,00 0	- 45,629 2	- 37,037 4
<b>ASA 150 mg/kg</b>	Control	- 49,50000*	1,64789	,00 0	- 53,795 9	- 45,204 1

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ASA: Ácido acetil salicílico

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior evidencia que a los grupos de ratones experimentales a los que se administró por vía oral el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) a las dosis de 100, 250 y 500 mg/kg mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control.

Tabla 12. Comparaciones múltiples por el test de Dunnet < control positivo (Ácido acetil salicílico 150 mg/kg)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza
					Límite superior
<b>Ext. 100 mg/kg</b>	ASA 150 mg/kg	33,00000	1,55099	1,000	36,4002
<b>Ext. 250 mg/kg</b>	ASA 150 mg/kg	13,16667	1,55099	1,000	16,5669
<b>Ext. 500 mg/kg</b>	ASA 150 mg/kg	7,50000	1,55099	1,000	10,9002

ASA: Ácido acetil salicílico

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que la diferencia de las medias de los grupos a los que se les administró extracto al 100, 250 y 500 mg/kg es de 33.0, 13.17 y 7.5 con el grupo ácido acetil salicílico 150 mg/kg respectivamente. Esto evidencia que en el grupo control positivo (ASA 150 mg/kg) hubo menos contorsiones abdominales.

La tabla anterior también evidencia que no existe menor cantidad de contorsiones abdominales que las que se produjo en el grupo control por el test de Dunnet ( $p > 0.05$ ).

#### IV. DISCUSIÓN

El tamizaje fitoquímico realizado en el extracto etanólico de las hojas *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) evidenció la presencia de los metabolitos secundarios quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, terpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y saponinas (tabla 5).

Alvarenga et al (2001). Publicaron en un estudio quimiotaxonómico que la tribu *Liabae*, una taxa de la que forma parte el género *Munnozia*, presenta fundamentalmente lactonas y con menor frecuencia sesquiterpenos y flavonoides. (51) También Emerenciano V et al (2001) publica que los flavonoides, son metabolitos predominantes en la tribu *Liabae*. (52) En un estudio Lara et al (2008) muestra que a partir de un extracto etanólico de las hojas de *Munnozia senecionidis* proveniente de Venezuela se determinó la presencia de triterpenos por técnicas espectroscópicas. (53) Además Fournet A (1993) determinó que en *Munnozia maronii* proveniente de Bolivia se identificó una sesquiterpenlactona mediante técnicas espectroscópicas. (54) Niño J et al (2006) evidenció la presencia de triterpenos, saponinas y flavonoides en extractos etanólicos de las hojas de *Munnozia polymonioides*, *Munnozia senecionidis* y *Aspilla quinquenervis* (*Asteraceae*) provenientes de Colombia. (55)

El ensayo farmacológico evidenció efecto analgésico ya que los grupos experimentales; extracto al 100, 250 y 500 mg/kg mostraron medias de 43.17, 23.33, 18.33 contorsiones abdominales frente a 54.67 producidas en el grupo control negativo (tabla 8).

Miraj A et al (2019). El extracto alcohólico de las hojas de *Averrhoa bilimbi* proveniente de Bangladesh mostró efecto analgésico mediante el ensayo de contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones.  $10.16 \pm 1.21$  y  $8.5 \pm 1.17$  a las dosis de 200 y 400 mg/kg. (56) A pesar de que la especie botánica *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) sea ampliamente usada en la medicina tradicional, no existen antecedentes que validen su uso como analgésico, pero si existen investigaciones realizadas en especies pertenecientes a la misma familia en donde se realizaron ensayos pre-clínicos. Faiza R et al (2019). Demostró que el extracto alcohólico de las hojas de *Rudbeckia hirta* proveniente de Bangladesh presenta efecto analgésico mediante el ensayo de contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones con resultados como  $10.4 \pm 0.65$  y  $8.88 \pm 0.69$  a las dosis de 250 y 500 mg/kg. (18) También Khanum S et al (2019). En el extracto etanólico de las hojas de *Wedelia chinensis* proveniente de Bangladesh mostró efecto

analgésico mediante el ensayo de contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones con resultados como  $7.67 \pm 0.85$  y  $5.83 \pm 1.01$  a las dosis de 200 y 300 mg/kg. (57) También Ezeonwumelu J et al (2019). En el extracto etanólico de las hojas de *Bidens pilosa* proveniente de Uganda mostró efecto analgésico mediante el ensayo de contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones con resultados como  $2.2 \pm 0.86$ ,  $1.2 \pm 0.8$  y  $0.6 \pm 0.6$  a las dosis de 200, 400 y 800 mg/kg. (58)

El efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) podrían ser debido a la presencia de flavonoides ya que en otra especie de la familia se encontraron el mismo tipo de metabolito secundario con efecto analgésico. Martínez-Vázquez M et al (1998) aislaron pectolinarina, un flavonoide con efecto analgésico, a partir de las partes aéreas de *Cirsium subcoriaceum* (*Asteraceae*). (59)

## V. CONCLUSIONES

1. Los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) determinados son: quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, terpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y saponinas.
2. La dosis de 500 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos.
3. El efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) es menor comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos.



## VI. RECOMENDACIONES

1. Investigar el efecto analgésico de los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) mediante estudios clínicos.
2. Realizar estudios de toxicológicos para determinar la inocuidad tanto del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) como de sus componentes bioactivos.
3. Realizar investigaciones en otros órganos de la especie *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H.Rob. & Brettell respecto a su efecto analgésico y otros efectos biológicos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* 2005;78(5):431–41.
2. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. 1st ed. Ginebra: OMS; 2005.
3. Pongo E, Herrera R. Control de calidad y eficacia topica de los ungentos obtenidos de las fracciones de *Munnozia hostifolia* en la curacion de quemaduras de tercer grado en ratas Holzman. Universidad San Luis Gonaga de Ica; 2015.
4. Ibañez S, Morales C, Calleja MA, Moreno PJ, Galvez R. Terapéutica: Tratamiento del dolor. In: Ibañez S, Morales C, Calleja MA, Moreno PJ, Galvez R, editors. Formación continuada para farmaceuticos de hospital. Barcelona: Grupo ferrer; 2015. p. 118–52.
5. Bautista C, Grossman S. Función somatosensorial dolor y cefalea. In: Gossman S, Mattson C, editors. Porth Fisiopatología: Alteraciones de salud, conceptos básicos. 9th ed. China: CyC offset-china; 2014. p. 422–51.
6. Camargo D, Jimenez J, Archila E, Villamizar M. El dolor: una perspectiva epidemiológica. *Salud UIS.* 2004;36(1):40–51.
7. OMS. Directrices de la OMS sobre el tratamiento farmacologico del dolor en niños con enfermedades medicas. 2012.
8. Van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *Br J Anaesth.* 2013;111(1):13–8.
9. Casals M. Epidemiologia, prevalencia y calidad de vida del dolor cronico no oncologico. Estudio Itaca. *Rev Soc Esp Dolor.* 2004;11(5):260–9.
10. Henschke N, Kamper SJ, Maher CG. The epidemiology and economic consequences of pain. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(1):139–47.
11. Ministerio de salud. INFORME ETES-DAUM-DIGEMID/MINSA. Lima; 2009.
12. INEI. INEI-Perú características de salud de la población [Internet]. Instituto nacional de estadistica e informatica. 1996 [cited 2019 May 3]. Available from: <http://proyectos.inei.gob.pe/web/biblioineipub/bancopub/Est/Lib0031/CAPI-2.htm>
13. Gestión. El 39% de peruanos sufre de dolores cervicales y eso incrementa el ausentismo laboral. *Diario Gestión.* 2016. p. 1.
14. Torres E, Et al. Estudio fitoquimico y efecto antiulceroso del extracto etanólico de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp) H. Rob y Bretell (Alas de murcielago). VI

- Congr Latinoam plantas Med. 2018;31.
15. Chilquillo H, Cervantes R. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl) Cuatrec vira-vira. Universidad nacional mayor de san marcos; 2017.
  16. Onoja SO, Onyebuchi GC, Ijeh II, Ezeja MI. Anti-inflammatory and analgesic activities of methanol extract of *Helianthus annuus* Linn. (Asteraceae) leaf. *EuroBiotech J.* 2019;3(2):112–6.
  17. Metrouh-Amir H, Amir N. Evaluation in vivo of anti-inflammatory and analgesic properties of *Matricaria pubescens* alkaloids. *South African J Bot.* 2018;116:168–74.
  18. Faiza RT, Mahmud E, Islam M, Faisal S, Islam A, Asad A Bin, et al. Determination of thrombolytic , antioxidant and analgesic activity of methanolic extracts of *Rudbeckia hirta*. *Discov phytomedicine.* 2019;6(2):77–82.
  19. Guo J, Zhang D, Yu C, Yao L, Chen Z, Tao Y, et al. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Analgesic Activities of *Incarvillea compacta* Maxim from the Tibetan Plateau. *Molecules.* 2019;24(9):1692–722.
  20. Dewick PM. Medicinal natural product: A biosynthetic approach. 3rd ed. UK: John Wiley and Sons; 2009. 546 p.
  21. Lock O, Perez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *Nat Prod Commun.* 2016;11(3):315–37.
  22. García DE. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y Forrajes.* 2004;27(1):1–12.
  23. Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2000. 528 p.
  24. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.
  25. Isaza JH. Taninos o Polifenoles Vegetales. *Sci Tech.* 2007;33(33):13–8.
  26. Dillon MO. Nuevos registros de Asteraceae para la flora de Perú New records in the Asteraceae flora of Peru. *Arnaldoa.* 2006;13(2):314–7.
  27. Fornasari D. Pain pharmacology: Focus on opioids. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2014;11(3):165–8.
  28. Pabon Henao T, Pineda Saavedra LF, Cañas Mejía OD. Fisiopatología, evaluación y manejo del dolor agudo en pediatría. *Salut Sci Spiritus.* 2015;1(2):25–37.

29. Sisk AL, Mosley R, Martin RP. Physiopathology and control of postoperative pain. *Arch Surg.* 1977;112(6):773–81.
30. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. Dolor en pediatría. Ed. Médica Panamericana, editor. 2006. 121 p.
31. Villarejo M, Murillo J, Alvarado H. FARMACOLOGÍA DE LOS AGONISTAS Y ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES OPIOIDES. *Educ e Investig Clínica.* 2000;1:106–37.
32. Zieglgänsberger W, Toile TR. The pharmacology of pain signalling. *Curr Opin Neurobiol.* 1993;3(4):611–8.
33. McMurry J. Química orgánica. 7th ed. Mexico: Cengage learning; 2008. 1224 p.
34. Ribeiro RA, ML V, S M T, AB P, SH F, FQ C. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol.* 2000;387(1):111–8.
35. Berkenkopf JW, Weichman BM. Production of prostacyclin in mice following intraperitoneal injection of acetic acid, phenylbenzoquinone and zymosan: Its role in the writhing response. *Prostaglandins.* 1988;36(5):693–709.
36. Georgieva D, Georgiev V. The role of angiotensin II and of its receptor subtypes in the acetic acid-induced abdominal constriction test. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999;62(2):229–32.
37. Florez J. Farmacología Humana. Mexico DF; 2003. 204–205 p.
38. Alvarado J. Apuntes de Farmacología. 4 edición. Apuntes Médico del Perú EIRL, editor. Lima; 2015.
39. Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11th ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p.
40. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med.* 2006;27(1):1–93.
41. Serrano R. Toxic Plants: Knowledge, Medicinal Uses and Potential Human Health Risks. *Environ Ecol Res.* 2018;6(5):487–92.
42. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: Organización mundial de la salud ginebra; 2014.
43. Hernandez R. Metodología de investigación. 5a ed. Mc graw-hill, editor. México; 2010. 656 p.
44. Gad SC, Cassidy CD, Aubert N, Spainhour B, Robbe H. Nonclinical vehicle use in

- studies by multiple routes in multiple species. *Int J Toxicol*. 2006;25(6):499–521.
45. Durst DH, Gokel GW. *Química organica experimental*. Casellas M, Granado R, editors. Barcelona: reverte; 1985.
  46. Biradar SR. Extraction of Some Secondary Metabolites & Thin Layer Chromatography from Different Parts of *Centella Asiatica L.* (URB). *Am J Life Sci*. 2013;1(6):243–7.
  47. McLaughlin JL, Goyan JE, Paul AG. Thin-layer chromatography of ergot alkaloids. *J Pharm Sci*. 1964;53(3):306–10.
  48. Bonilla PE, Arroyo J, Lozano NM, Beltran H, Alba A, Aguedo J, et al. Composición química y actividad farmacológica del extracto etanólico de *Satureja sericea* (goyal). *Cienc Invest*. 2011;14(1):14–20.
  49. Parimelazhagan T. *Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products*. Rainsford KD, editor. Vol. 71. Springer; 2016. 182 p.
  50. Taber RI, Greenhouse DD, Rendell JK, Irwin S. Agonist and antagonist interactions of opioids on acetic acid-induced abdominal stretching in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 1969;169(1):29–38.
  51. Alvarenga SAV, Ferreira MJP, Emerenciano VP, Cabrol-Bass D. Chemosystematic studies of natural compounds isolated from Asteraceae: Characterization of tribes by principal component analysis. *Chemom Intell Lab Syst*. 2001;56(1):27–37.
  52. Emerenciano VP, Militão JSLT, Campos CC, Romoff P, Kaplan MAC, Zambon M, et al. Flavonoids as chemotaxonomic markers for asteraceae. *Biochem Syst Ecol*. 2001;29(9):947–57.
  53. Lara J, Rojas L, Carmona J. Estudio fitoquímico de la planta *Munnozia senecionidis* Benth. In 2008. p. 180.
  54. Fournet A, Muñoz V, Roblot F, Hocquemiller R, Cavé A, Gantier J -C. Antiprotozoal activity of dehydrozaluzein C, a sesquiterpene lactone isolated from *Munnozia maronii* (asteraceae). *Phyther Res*. 1993;7(2):111–5.
  55. Niño J, Narváez DM, Mosquera OM, Correa YM. ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF EIGHT ASTERACEAE.pdf. *Brazilian J Microbiol*. 2006;37(4):566–70.
  56. Miraj AJ, Kabir A, Mamun Y, Akhter S, Ahammed S, Sultana S, et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory activities of methanolic extracts of the leaves of *Averrhoa bilimbi* leaves. *Discov phytomedicine*. 2019;6(1):12–5.

57. Khanum S, Sarwar MS, Islam MS. In vivo neurological, analgesic and in vitro antioxidant and cytotoxic activities of ethanolic extract of leaf and stem bark of *Wedelia chinensis*. *Bangladesh Pharm J.* 2019;22(1):18–26.
58. Ezeonwumelu JOC, Ntale M, Ogonnia SO, Agwu E, Tanayen JK, Adedeji AA, et al. Analgesic appraisal of *Bidens pilosa* (Asteraceae) leaf extracts used in management of oral lesion pain in HIV/AIDS patients in rodents. *Pharmacol & Pharm.* 2018;9(6):175–92.
59. Martínez-Vázquez M, Ramírez Apan TO, Lastra AL, Bye R. A comparative study of the analgesic and anti-inflammatory activities of pectolinarin isolated from *Cirsium subcoriaceum* and linarin isolated from *Buddleia cordata*. *Planta Med.* 1998;64(2):134–7.

## ANEXOS

### Anexo 1: Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLES			METODOLOGIA
			Independiente	Dimensión	Indicador	
¿Cuál será el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp) H.Rob & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos?	Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos.	Si existe efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) en ratones albinos.	Extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago).	Fitoquímica	Reacciones de coloración y de precipitación.	<b>DISEÑO Experimental</b> Experimento puro debido a que se manipula la variable independiente y se mide su efecto sobre la variable dependiente.  <b>TIPO :</b> Aplicada  <b>NIVEL:</b> Explicativo  <b>POBLACIÓN DE MUESTRA:</b> La muestra está conformada por 30 ratones albinos evaluadas.  <b>INSTRUMENTOS Y TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:</b>  <b>TÉCNICA:</b> Contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones albinos  <b>INSTRUMENTO:</b> Ficha de observación.  <b>PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS:</b> Análisis descriptivo de tendencia central e inferencial con test Levene, Shapiro-Wilk y Dunnett
			Dependiente	Dimensión	Indicador	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	Efecto analgésico	Farmacológico	Número de contorsiones abdominales.	
1. ¿Cuáles serán los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp?) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago)?  2. ¿Existirá una dosis del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos?  3. ¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H.Rob. & Brettell (ala de murciélago) presentará efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos?	1. Determinar los tipos metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago).  2. Determinar una dosis del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos  3. Determinar si el extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) presenta efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos.	1. Si existen varios tipos de metabolitos secundarios presentes el extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago).  2. Si existe una dosis del extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) que presenta mayor efecto analgésico en ratones albinos.  3. El extracto etanólico de las hojas de <i>Munnozia hastifolia</i> (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) si presenta efecto analgésico comparado con el ácido acetil salicílico en ratones albinos.				

Anexo 2: Certificado de sanidad de los animales de experimentación.

	<b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO</b>
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">299 - 2019</span>	
Producto : Ratón albino	Lote N° : M-45-2019
Especie : <u>Mus musculus</u>	Cantidad : 30
Cepa : Balb/c/CNPB	Edad : 2 meses
Peso : Mayor a 25 g.	Sexo : macho
Guías de remisión : 038326	Destino : Baldeón Sevillano, Melva.
Chorrillos : 06 - 11 - 2019	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : PRT-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>	
Chorrillos, 06 de noviembre del 2019 (Fecha de emisión del certificado)	
<b>NOTA:</b> El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.	 ..... M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586



Anexo 3: Certificado de clasificación taxonómica.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

## CONSTANCIA N° 359-USM-2019

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Silvia Achulli Moraya**, estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: **Munnozia hastifolia (Poepp.) H. Rob. & Brettell**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: ASTERALES**

**FAMILIA: ASTERACEAE**

**GENERO: Munnozia**

**ESPECIE: Munnozia hastifolia (Poepp.) H. Rob. & Brettell**

Nombre vulgar: "ala de murciélago"  
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

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

Lima, 24 octubre de 2019



*[Signature]*  
**Dra. Mónica Arakaki Makishi**  
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

MAM/ddb

Anexo 4: Testimonio fotográfico.



Figura 7. Colecta de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago)



Figura 8. El has de la hoja de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago)



Figura 9. Flores de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago)



Figura 10. Selección de las hojas de *Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago)



Figura 11. Secado de las hojas en una estufa



Figura 12. Pesado de las hojas





Figura 13. Maceración de las hojas secas



Figura 14. Filtrado del macerado de las hojas



Figura 15. Pesado de los animales de experimentación



Figura 16. Elaboración de las soluciones para ensayo farmacológico



Figura 17. Animales de experimentación agrupados para ensayo farmacológico



Figura 18. Administración oral de sustancias experimentales a los ratones, por vía oral

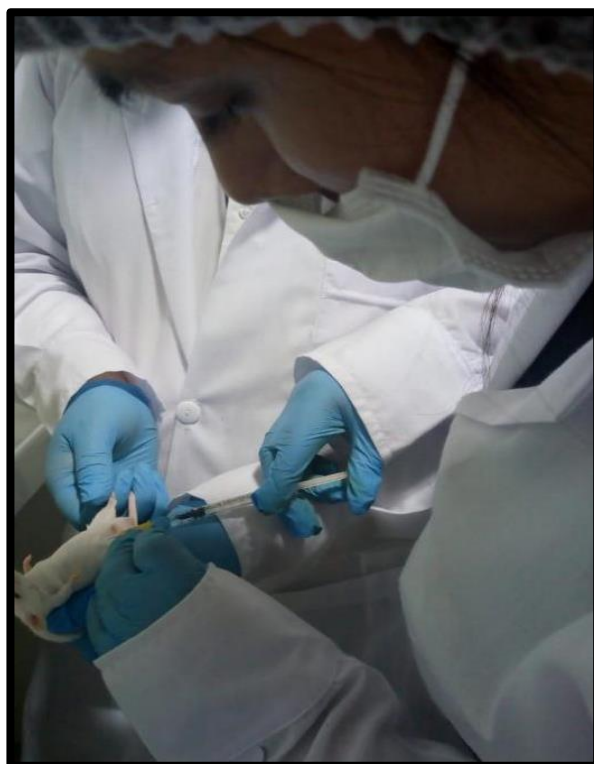


Figura 19. Inducción al dolor a los animales de experimentación

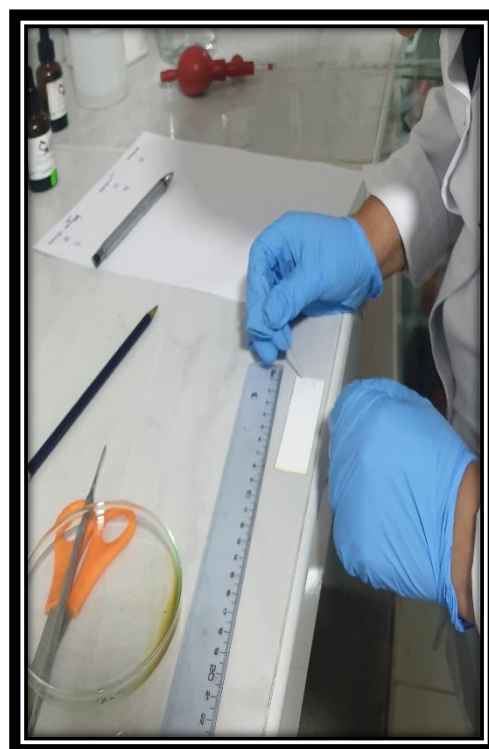


Figura 34. Preparación de soluciones para cromatografía capa fina





UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
 FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) EN  
 RATONES ALBINOS.**

Animales de experimentación: .....

Sexo de animales de experimentación: .....

Agente inductor .....

Dosis del agente inductor: .....

Fecha de inicio y finalización del ensayo: .....

Vía de administración: .....

Ratón N°	Contorsiones abdominales				
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Media					

Verificar el número de contorsiones abdominales producido en los ratones albinos de cada grupo control y posteriormente obtener el resultado final que es la media aritmética.

Validado por: Mario Pizarro

Mario Pizarro N203.



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE**  
***Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) EN**  
**RATONES ALBINOS.**

**Animales de experimentación:** .....

**Sexo de animales de experimentación:** .....

**Agente inductor** .....

**Dosis del agente inductor:** .....

**Fecha de inicio y finalización del ensayo:** .....

**Vía de administración:** .....

Ratón N°	Contorsiones abdominales				
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Media					

Verificar el número de contorsiones abdominales producido en los ratones albinos de cada grupo control y posteriormente obtener el resultado final que es la media aritmética.

Validado por: Mg. Oscar Flores López

Anexo 7: Ficha de observación de recolección de datos del tamizaje fitoquímico



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) EN  
RATONES ALBINOS.**

Metabolitos secundarios				
	Ensayos	Metabolito	Resultado	Interpretación
1	Borntrager	Quinonas	Rojo, fase acuosa	
2	FeCl <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos	Azul	
3	Shinoda	Flavonoides	Rojo	
4	NaOH 10%	Antocianinas	Naranja	
5	Gelatina	Taninos	Sin ppdo.	
6	Gelatina-sal	Taninos	Sin ppdo.	
7	Dragendorff	Alcaloides	Ppdo rojo	
8	Wagner	Alcaloides	Ppdo crema	
9	Mayer	Alcaloides	Ppdo marrón	
10	Liebermann-Burchard	Terpenos-esteroides	Verde vía rojo	
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	Naranja	
12	Espuma	Saponinas	Espuma	
Metabolitos primarios				
13	Benedict	Azúcares reductores	Ppdo rojo	
14	Fehling	Azúcares reductores	Ppdo rojo	
15	Acetato de plomo	Aminoácidos azufrados	Ppdo negro	
16	Molish	Carbohidratos	Anillo violeta	

(-): Leve; (+): Leve; (++) : Moderada y (+++) : Abundante

Validado por: Ma. Teresa Pérez Neumann  
Maria Teresa  
N203



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélagos) EN  
RATONES ALBINOS.**

Metabolitos secundarios				
	Ensayos	Metabolito	Resultado	Interpretación
1	Borntrager	Quinonas	Rojo, fase acuosa	
2	FeCl <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos	Azul	
3	Shinoda	Flavonoides	Rojo	
4	NaOH 10%	Antocianinas	Naranja	
5	Gelatina	Taninos	Sin ppdo.	
6	Gelatina-sal	Taninos	Sin ppdo.	
7	Dragendorff	Alcaloides	Ppdo rojo	
8	Wagner	Alcaloides	Ppdo crema	
9	Mayer	Alcaloides	Ppdo marrón	
10	Liebermann-Burchard	Terpenos-esteroides	Verde vía rojo	
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	Naranja	
12	Espuma	Saponinas	Espuma	
Metabolitos primarios				
13	Benedict	Azúcares reductores	Ppdo rojo	
14	Fehling	Azúcares reductores	Ppdo rojo	
15	Acetato de plomo	Aminoácidos azufrados	Ppdo negro	
16	Molish	Carbohidratos	Anillo violeta	

(-): Leve; (+): Leve; (++) : Moderada y (+++) : Abundante

Validado por: Mg. Oscar Flores López



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE**  
***Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) EN**  
**RATONES ALBINOS.**

\*Después de revisado el instrumento es valioso tu opinión acerca de los siguientes:

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
11. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
12. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
13. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					X
14. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
15. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					X
16. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					X
17. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					X
18. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					X
19. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					X
20. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					X
TOTAL						

Validado por: Ma. Piedad Pérez Navarrete  
 Fecha: 12-11-19

.....  
 Firma del experto





**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE**  
***Munnozia hastifolia* (Poepp.) H. Rob. & Brettell (ala de murciélago) EN**  
**RATONES ALBINOS.**

\*Después de revisado el instrumento es valioso tu opinión acerca de los siguientes:

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					X
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					X
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					X
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					X
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					X
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					X
<b>TOTAL</b>						

Validado por: Mg Oscar Flores López  
 Fecha: 11-12-2019

  
 .....  
 Firma del experto

Anexo 11: Estadísticos descriptivos de las contorsiones abdominales del ensayo farmacológico

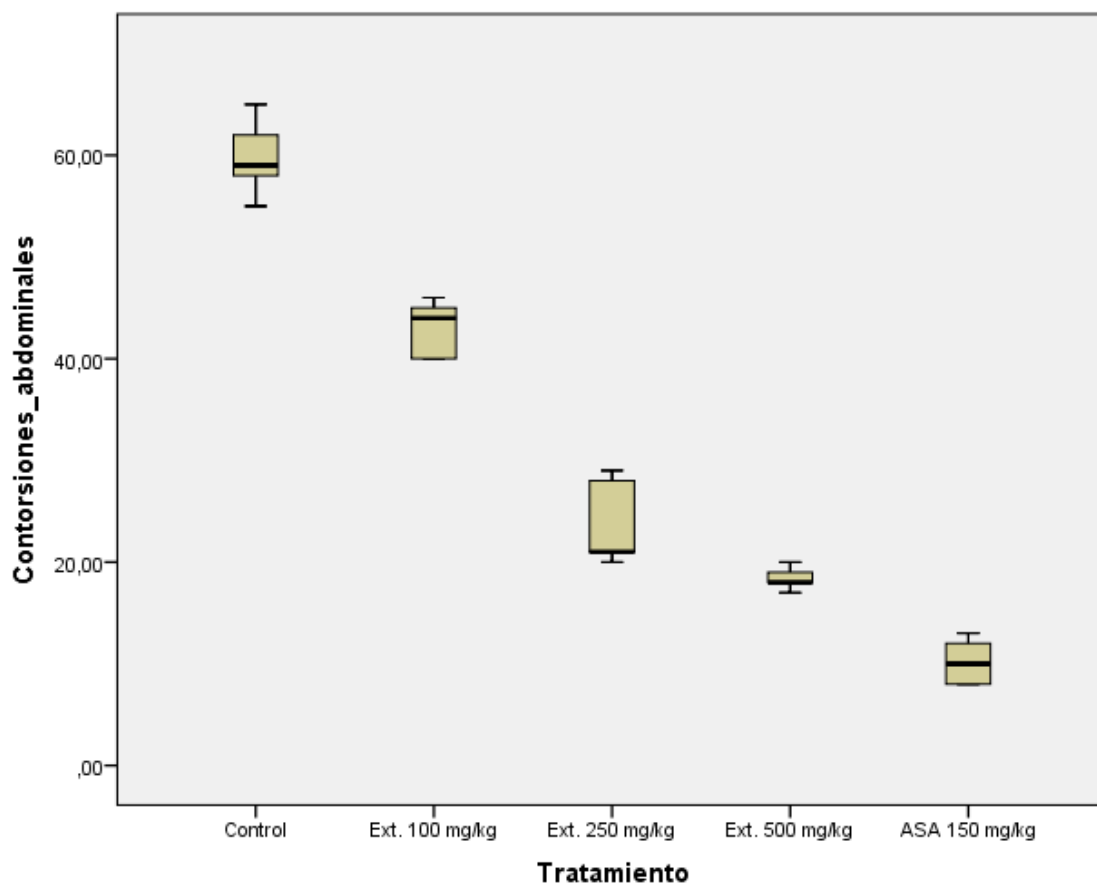
Grupos		Estadístico	Error estándar	
Control	Media	59,6667	1,40633	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	56,0516	
		Límite superior	63,2818	
	Media recortada al 5%	59,6296		
	Mediana	59,0000		
	Varianza	11,867		
	Desviación estándar	3,44480		
	Mínimo	55,00		
	Máximo	65,00		
	Rango	10,00		
	Rango intercuartil	5,50		
	Asimetría	,422	,845	
	Curtosis	,317	1,741	
Ext. 100 mg/kg	Media	43,1667	1,07755	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	40,3967	
		Límite superior	45,9366	
	Media recortada al 5%	43,1852		
	Mediana	44,0000		
	Varianza	6,967		
	Desviación estándar	2,63944		
	Mínimo	40,00		
	Máximo	46,00		
	Rango	6,00		
	Rango intercuartil	5,25		
	Asimetría	-,464	,845	
	Curtosis	-2,094	1,741	
Ext. 250 mg/kg	Media	23,3333	1,64655	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,1008	
		Límite superior	27,5659	
	Media recortada al 5%	23,2037		
	Mediana	21,0000		
	Varianza	16,267		
	Desviación estándar	4,03320		
	Mínimo	20,00		
	Máximo	29,00		
	Rango	9,00		
	Rango intercuartil	7,50		

	Asimetría		,953	,845
	Curtosis		-1,706	1,741
Ext. 500 mg/kg	Media		18,3333	,42164
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	17,2495	
		Límite superior	19,4172	
	Media recortada al 5%		18,3148	
	Mediana		18,0000	
	Varianza		1,067	
	Desviación estándar		1,03280	
	Mínimo		17,00	
	Máximo		20,00	
	Rango		3,00	
	Rango intercuartil		1,50	
	Asimetría		,666	,845
	Curtosis		,586	1,741
	ASA 150 mg/kg	Media		10,1667
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	7,9240	
		Límite superior	12,4093	
Media recortada al 5%			10,1296	
Mediana			10,0000	
Varianza			4,567	
Desviación estándar			2,13698	
Mínimo			8,00	
Máximo			13,00	
Rango			5,00	
Rango intercuartil			4,25	
Asimetría			,232	,845
Curtosis			-2,150	1,741

Este estadístico descriptivo expresa datos de tendencia central.



Anexo 12: Diagrama de cajas y bigotes de las contorsiones abdominales del ensayo farmacológico



Muestra de manera gráfica datos el promedio de las contorsiones abdominales del ensayo farmacológico además de los rangos de las mismas.