



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS
SEMILLAS DE *Pouteria lucuma* (lúcuma) EN RATONES ALBINOS**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. TORRES VALER, AEROLINDA

Bach. CRUZ VEGA, NELLY

ASESOR:

M. Sc. VELARDE APAZA, LESLIE DIANA

LIMA – PERÚ

2020

Dedicatoria

Este trabajo es dedicado a nuestras familias, padres por ser guías y ejemplo de amor, dedicación y superación para nuestra etapa universitaria.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios, a nuestros asesores y profesores por orientarnos; y nuestros compañeros de estudio por formar parte de nuestra vida académica.

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
III. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIONES.....	21
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS.....	30

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados del ensayo de solubilidad al extracto etanólico de las semillas de Pouteria lucuma (Lúcuma)	13
Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico al extracto etanólico de las semillas de Pouteria lucuma (Lucuma)	15
Tabla 3. Resultados del ensayo farmacológico.....	16
Tabla 4. Test de Shapiro-Wilk.....	17
Tabla 5. Test de Levene.	18
Tabla 6. ANOVA de los resultados del ensayo farmacológico.....	18
Tabla 7. Comparaciones múltiples por el test de Dunnett.....	19

Índice de figuras

Figura 1. Tratamiento y maceración de semillas de lúcum.....	35
Figura 2. Preparación de soluciones – Ensayo farmacológico	36
Figura 3. Ensayo Fitoquímico	38

Índice de anexos

Anexo A. Operacionalización de la variable o variables	30
Anexo B. Instrumentos de recolección de datos	31
Anexo C. Evidencias de trabajo de campo	34

Resumen

Objetivo: La presente investigación plantea el objetivo de comprobar la actividad analgésica del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) en ratones albinos.

Material y método: El método usado para determinar la actividad analgésica en ratones se fundamenta en medir el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y en el caso del tamizaje fitoquímico fue mediante reacciones de coloración y precipitación. El ensayo analgésico in vivo es de tipo experimental, con diseño experimento puro y de corte transversal. El ensayo requirió del uso de 5 grupos, grupo I como control blanco comprendido por una solución salina 0.9% 5 mL/Kg, grupo II como control positivo compuesto por ácido acetil salicílico 150 mg/kg, grupo III, IV y V como grupos experimentales comprendido por el extracto etanólico de semillas de *Pouteria lucuma* al 150 mg/Kg, 250 mg/Kg y 500 mg/Kg respectivamente.

Resultados: Los resultados del análisis fitoquímico del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) presentan quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas y azúcares reductores. El ensayo analgésico in vivo evidenció que los grupos de tipo control negativo, ácido acetil salicílico y las soluciones de extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) administradas a las dosis 150 mg/Kg, 250 mg/Kg y 500 mg/kg presentaron 19.83, 4.5, 18.83, 14.83 y 10.0 contorsiones abdominales promedio, respectivamente; evidenciando un efecto analgésico creciente dependiente de la dosis

Conclusiones: El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) no presentó efecto analgésico a la dosis de 150 mg/kg sin embargo si presentó efecto analgésico a la dosis de 250 mg/kg y 500 mg/kg pero menor efecto analgésico que el grupo control positivo compuesto por el ácido acetil salicílico a la dosis de 150 mg/kg en ratones albinos.

Palabras clave: *Pouteria lucuma*.; analgésico; extracto etanólico.

Abstract

Objective: The present research sets out to test the analgesic activity of the ethanolic extract of *Pouteria lucuma* (Lucuma) seeds in albino mice.

Method: The method used to determine the analgesic activity in mice is based on measuring the number of abdominal contortions induced by acetic acid and in the case of phytochemical screening it was by means of coloration and precipitation reactions. The in vivo analgesic test is of experimental type, with pure and cross-sectional experimental design. The assay required the use of 5 groups, group I as a white control composed by a 0.9% saline solution 5 mL/Kg, group II as a positive control composed by acetyl salicylic acid 150 mg/kg, group III, IV and V as experimental groups composed by the ethanolic extract of *Pouteria lucuma* seeds at 150, 250 and 500 mg/Kg respectively.

Results: The results of the phytochemical analysis of the ethanolic extract of the seeds of *Pouteria lucuma* (Lucuma) present quinones, phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, lactones α,β -unsaturated and reducing sugars. The in vivo analgesic test evidenced that the negative control type groups, acetyl salicylic acid and ethanolic extract solutions from seeds of *Pouteria lucuma* (Lúcuma) administered at doses 150, 250 and 500 mg/kg presented 19.83, 4.5, 18.83, 14.83 and 10.0 average abdominal contortions, respectively; evidencing an increasing analgesic effect depending on the dose

Conclusions: The ethanolic extract of the seeds of *Pouteria lucuma* (Lucuma) did not present an analgesic effect at a dose of 150 mg/kg, however, it presented an analgesic effect at a dose of 250 mg/kg and 500 mg/kg, but a lower analgesic effect than the positive control group composed of acetyl salicylic acid at a dose of 150 mg/kg in albino mice.

Keywords: *Pouteria lucuma*; analgesic; ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor se define según, la Asociación Internacional para el estudio del dolor, como una experiencia sensorial y emocional desagradable, que se relaciona con un daño tisular real o potencial (1), es un problema de salud pública y una de las principales manifestaciones clínicas que genera complicación en la población (2). El Reino Unido, es uno de los países que publica de manera anual, datos poblacionales de dolor de espalda, en población adulta y adolescente; estas cifras; en mayores de 18 años, son similares a las registradas en otros países europeos, Estados Unidos y China (2). En Europa el 20 % de la población padece de dolor crónico, principalmente en mujeres y personas mayores (3), y solo en España, un 29.6 % de la población no hospitalizada, padece algún tipo de dolor, siendo el 17.6 %, dolor crónico (4). En nuestro país, el dolor es causa de consulta médica de múltiples patologías, como la fibromialgia con un promedio en Lima de 3.1 y 3.7 atenciones en postas de salud y hospitales; generando que de 75 pacientes féminas del Hospital Nacional Cayetano Heredia; 44 personas (58.67 %) mencionan que pasaron a laborar de manera intermitente y 8 pacientes (10.67 %) refirieron haber perdido el trabajo (5), por lo que el dolor, se relaciona con enfermedades neoplásicas, enfermedades autoinmunes y generalmente problemas de salud de tipo menor, como procesos inflamatorios agudos, asimismo el dolor lumbar, de cuello y de cabeza son consideradas como sintomatologías comunes en la población (6).

En la actualidad, el tratamiento farmacológico contra el dolor severo es liderado por los analgésicos opiáceos, cuya acción se debe a la interacción con los receptores opioides; seguido de los derivados opiáceos contra el dolor moderado, y los AINEs contra el dolor leve (7). Sin embargo a pesar de su eficacia y potencia, presentan desventajas, como la farmacodependencia, constipación, náuseas y úlceras gastrointestinales respectivamente (8,9). Por lo tanto es necesario buscar alternativas de tratamiento seguro, ante la manifestación clínica del dolor, una alternativa proviene de la fitoterapia; por esta razón, nosotras postulamos a las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) (10), debido a usos tradicionales en procesos de dolor e inflamación (11) y porque investigaciones realizadas en otras semillas indican, que la presencia de β -sitosterol en extractos

etanólicos, presentan propiedad analgésica, antiinflamatoria, antipirética, análogo de la hidrocortisona (12), cuyo mecanismo de acción podría deberse a la disminución de la sensibilización de las fibras C amielínicas y fibras A delta mielínicas, encargadas de la transmisión del dolor (13), contribuyendo de esta manera a la acción analgésica, se han revelado la presencia de terpenos, saponinas y alcaloides en semillas de *Pouteria lucuma* (14), de los que se han descrito su acción analgésica y antiinflamatoria (15). Por lo que, existe la posibilidad de que metabolitos presentes en *Pouteria lucuma* presenten actividad analgésica.

En el Perú hay amplia variedad genética de lúcuma, se conoce desde tiempos incaicos y aún forma parte de la dieta y medicina tradicional (16). *Pouteria lucuma* (lúcuma) es una especie nativa de valles interandinos de Perú, Ecuador y Chile (17) pertenece a la familia Sapotaceae y al género *Pouteria* (18), con aplicaciones en la salud en hiperglucemia, depresión, fiebre, dislipidemias, ataques cardiacos, el látex se usa contra afecciones cutáneas, como herpes, verrugas y afectaciones de la piel; el aceite de la semilla influye disminuyendo la inflamación, la angiogénesis, el crecimiento bacteriano, fúngico y acelerando la cicatrización de heridas en modelos *in vivo* e *in vitro*, igualmente actúa controlando paulatinamente los dolores musculares (11,19). A nivel bioquímico, la señal es recogida por los nociceptores, éstos captan el dolor y es enviada hacia el Sistema nervioso central (SNC) (20), se clasifica como agudo y crónico (21). En función de los mecanismos fisiopatológicos, el dolor se diferencia en nociceptivo o neuropático (22). El dolor nociceptivo se subdivide en dolor somático y visceral (23). En el origen de los distintos tipos interviene un mediador químico o una combinación de ellos, como iones, aminos, quininas, acetilcolina, entre otras (24). Los receptores opioides pertenecen a la familia de receptores acoplado a proteínas G, cuyos ligandos naturales son los opioides endógenos (dinorfinas, encefalinas, endorfinas, endomorfina, nociceptina) (25). Debido a lo antes expuesto se plantea determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) en ratones albinos.

Matos, P. (2016), realizó el estudio del efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Pouteria ramiflora*, la prueba de formalina y aumentó de presión en la pata, indicó la reducción en respuesta hipernociceptiva,

5gr/kg de extracto no mostró toxicidad, concluyen que si existe actividad farmacológica (26).

Souza, J. *et al.* (2016) investigaron la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de raíz de *Pouteria ramiflora*, en 50 mg/kg y 100mg/kg, disminuyen el número de células inflamatorias y las contorsiones abdominales en ratones; aumentando el tiempo de reacción en la prueba de la placa calefactora (27).

Guerrero, P. (2018), realizó el estudio del aceite y extracto metanólico de semillas de *Pouteria lucuma*, identificando triterpenos lineales, triterpenos esteroidales y no esteroidales, β -sitosterol, estigmasterol, flavonoides, saponinas, cumarinas, taninos, amirina, lanosterol (14).

Guerrero, P. *et al.* (2019) identificaron taninos, compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos en el extracto metanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma), provenientes de Cañete-Lima, mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (28).

Gopalkrishnan, B. *et al.* (2016) en una investigación evidenciaron la presencia de terpenoides, quinonas, glicósidos cardiotónicos (presenta lactona α,β -insaturada), compuestos fenólicos y taninos en el extracto etanólico de las semillas de *Madhuca longifolia*, (sapotaceae) proveniente de la India, mediante técnicas de coloración y precipitación (29).

Sinaga, M. *et al.* (2016) identificaron alcaloides, saponinas, quinonas, compuestos fenólicos, glicósidos cardiotónicos y flavonoides en el extracto metanólico de las semillas de *Azadirachta indica* (sapotaceae), proveniente de Etiopia, mediante técnicas de coloración y precipitación (30).

La justificación teórica del presente estudio corresponde en el aporte de nuevos conocimientos a la comunidad científica y población en general sobre el uso de plantas medicinales recomendados contra el dolor.

La justificación práctica está enfocada a ser parte de la solución y/o alternativa de tratamiento natural que engloba de manera social y económica en los usuarios de estos productos.

La justificación metodológica de esta investigación comprende el uso de técnicas y protocolos validados que corresponden a resultados confiables.

El objetivo del presente estudio es determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) en ratones albinos.

La hipótesis corresponde que el extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) si presenta efecto analgésico significativo en ratas albinas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de investigación

El presente estudio es de enfoque cuantitativo y usa la recolección de datos para probar la hipótesis, en cuanto al diseño metodológico es una investigación experimental ya que en este estudio se manipulan las variables buscando determinar su posible relación causa efecto, de tipo experimento puro.

2.2. Población, muestra y muestreo

2.2.1 Población

- La población está constituida por el fruto de 24 plantas de *Pouteria lucuma* (lúcuma) en un área de 10m² en el distrito de Huaral, provincia de Huaral, departamento de Lima, geográficamente ubicado en coordenadas 11°30'2.74" S, 77°12'32.62" W, a 188 m.s.n.m. de altitud.
- Ratones albinos machos

2.2.2 Muestra

- La muestra vegetal está constituida por 100g de las semillas de frutos de *Pouteria lucuma* (Lúcuma)
- 30 ratones albinos machos

2.2.3 Criterio de Inclusión

- Frutos maduros de *Pouteria lúcuma*
- Frutos sin ningún tipo de lesión
- Ratones macho, sanos con peso mayor a 25 g.
- Ratones de la misma cepa

2.2.4 Criterio de Exclusión

- Frutos que aún no han completado el proceso de maduración.
- Frutos con señales de haber sido afectados por plagas o microorganismos.

- Ratones de diferente cepa
- Ratones que pesan menos que 25 g.

2.3. Variables de investigación

Independiente: Extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma*.

Dependiente: Efecto analgésico

2.3.1. Definición conceptual

- Extracto etanólico: es una disolución de principios activos de una planta o parte de esta en un medio líquido que actúa de disolvente, el solvente empleado es el etanol (31).

- Efecto analgésico: es la capacidad que tienen algunas sustancias de suprimir o aliviar la sensación dolorosa (32).

2.3.2. Definición operacional:

- Extracto etanólico: se empleó la prueba de solubilidad y la técnica de coloración y precipitación denominado marcha fitoquímica.

- Efecto analgésico: se evaluó la cantidad de contorsiones abdominales inducidas en ratones albinos en función a los diferentes tratamientos.

2.4. Técnica e instrumento de medición

La técnica requerida para la ejecución de la presente investigación es la observación estructurada no participante en el laboratorio, ya que será un ensayo

sistematizado y el investigador es solo un observador del ensayo en condiciones controladas (33,34).

El método empleado para evaluar el efecto analgésico es la inducción química de dolor con ácido acético 1%.

El instrumento que se usó durante el trabajo de investigación fue la ficha de observación ad-hoc. Para poder evidenciar el porcentaje de actividad analgésica o porcentaje de inhibición se usará la siguiente fórmula:

$$\frac{CC - CE}{CC} \times 100$$

CC: Número de contorsiones del grupo control

CE: Número de contorsiones del grupo experimental

2.5. Procedimiento para la recolección de datos

2.5.1 Material biológico

Fue conformado por semillas del fruto de *Pouteria lucuma* procedentes del distrito de Huaral, provincia de Huaral en el departamento de Lima. Estos fueron recolectados en el mes de Julio del año 2020.

2.5.2 Recolección de la muestra

Los frutos de *Pouteria lucuma* en un estado de madurez organoléptica (pulpa color amarillo o naranja) (35,36), fueron recolectados en el distrito de Huaral, mediante el uso de tijeras de jardín, luego se procedió a guardar en cajas que permitieron la ventilación del material vegetal, el cual se trasladó a Lima. Luego se seleccionaron los frutos sin signos de descomposición o de contaminación por microorganismos. Luego de este proceso los frutos aptos se lavaron, pelaron y se separó la pulpa de las semillas. El material vegetal se pesó y luego se secó en una estufa a una temperatura de 40 °C.

2.5.3 Molienda y extracción

Las semillas seleccionadas se trozaron con ayuda de un cuchillo de acero inoxidable luego se secaron en una estufa a 40 °C. Las semillas secas y trozadas se redujeron hasta obtener un polvo fino y homogéneo por fricción con un pilón sobre un mortero. Dicho polvo seco se usó en el proceso de extracción mediante la técnica de maceración, usando como sustancia extractora al etanol de 96° por un tiempo de siete días con agitación mecánica cada 12 horas.

Después de la maceración, el líquido resultante se filtró con papel filtro whatman N°1 sobre un embudo de vidrio. El líquido filtrado se concentró en un evaporador rotatorio con un baño de calor a 40 °C hasta lograr un volumen de 20 ml aproximadamente. El líquido resultante se vertió sobre un recipiente de vidrio plano de amplia superficie para facilitar la evaporación del disolvente. Este recipiente se puso a sequedad en una estufa a la misma temperatura con el fin de obtener el extracto seco, el cual se pesó y envasó en un frasco de vidrio protegido de la luz (ámbar).

2.5.4 Prueba de solubilidad

Para esta prueba se usaron 9 tubos de ensayo, se agregó 100 mg del extracto seco de semillas de *Pouteria lucuma* y luego dentro de cada tubo se vertió 0.25 mL de los siguientes disolventes: Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, n-butanol, acetato de etilo, n-propanol, etanol, metanol y agua destilada; se agitó y se procedió a observar la formación de una mezcla soluble o insoluble.

2.5.5 Tamizaje fitoquímico

La técnica que se ejecutó para la determinación de los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma*, fue de reacciones por coloración y precipitación según el método de Olga Lock (37).

2.5.6 Ensayo farmacológico

Aclimatación

Los animales de experimentación que se usaron en el ensayo fueron aclimatados durante 48 horas con alimentación e hidratación *ad libitum*. Los animales de experimentación tuvieron acceso a 12 horas de luz y 12 horas con ausencia de la misma (38).

Elaboración de soluciones para el ensayo

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

$$99.9 \times V_1 = 0.6 \times 100 \quad \longrightarrow \quad V_1 = 0.6 \text{ mL}$$

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

- Fármaco referencia: Ácido acetil salicílico 9 mg/ml

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

150 mg	-----1000 g		4.5 mg-----0.3 mL	
x	-----30 g	x = 4.5	x	-----10 mL
mg			mg	x = 150

- Solución de extractos para administración oral:

Para la dosis 150 mg/kg			
150 mg	-----1000 g		4.5 mg-----0.3 mL
x	-----30 g		x
x = 4.5 mg			x = 150 mg
Para la dosis 250 mg/kg			
250 mg	-----1000 g		7.5 mg-----0.3 mL
x	-----30 g		x
x = 7.5 mg			x = 250 mg
Para la dosis 500 mg/kg			

$\begin{array}{r} 500 \text{ mg} \quad \text{-----} 1000 \text{ g} \\ x \quad \quad \quad \text{-----} 30 \text{ g} \\ x = 15 \text{ mg} \end{array}$	$\begin{array}{r} 15 \text{ mg} \quad \text{-----} 0.3 \text{ mL} \\ x \quad \quad \quad \text{-----} 10 \text{ mL} \\ x = 500 \text{ mg} \end{array}$
---	--

Se prepararon 3 soluciones de extracto con 150 mg, 250 mg y 500 mg en 10 mL, con agua destilada, cada una respectivamente. Para la administración a las dosis de 150 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg.

Ensayo analgésico

El ensayo se fundamenta en medir el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético. El estudio se basa en el método descrito por Taber *et al.* (39,40).

- 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 (20–25 g).
- Se agruparon los ratones de modo que cada grupo contenga 6 ratones albinos.
- ✓ Grupo I: Control blanco (Solución salina 0.9% 5 mL/Kg) vía oral
- ✓ Grupo II: Control positivo (Ácido acetil salicílico 150 mg/kg)
- ✓ Grupo III: Extracto de semilla de *Pouteria lucuma* (150 mg/Kg).
- ✓ Grupo IV: Extracto de semilla de *Pouteria lucuma* (250 mg/Kg).
- ✓ Grupo V: Extracto de semilla de *Pouteria lucuma* (500 mg/Kg).
- Los animales reaccionaron con movimientos característicos, como la extensión de la extremidad posterior, la constricción abdominal y el movimiento de torsión del tronco llamado retorcimiento.
- Después de 30 minutos de administración de los tratamientos por vía oral, se inyectó 0,1 ml/10 g de una solución de ácido acético por vía

intraperitoneal (i.p.) a todos los grupos de animales para inducir las contorsiones.

- Luego se registró el número de contorsiones que ocurren entre 0 y 30 minutos después de la inyección de ácido acético.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

La información recolectada se analizó en el programa estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) en su versión de acceso. Se usó estadística descriptiva para determinar la distribución de los datos que se recolectaron a través de medidas de tendencia central, dispersión, forma y posición como los test de Shapiro-Wilk y Levene. Además, se utilizó estadística inferencial para establecer la evaluación de la docimasia de la hipótesis de investigación, mediante los estadísticos ANOVA, de Dunnet, T3 de Dunnet y H de Kruskal-Wallis según corresponda a la distribución y homocedasticidad de los resultados.

2.7. Aspectos éticos

El presente estudio, se realizó respetando los aspectos éticos de autonomía, beneficencia, no maleficencia y de justicia en animales de experimentación.

2.7.1. Principio de autonomía

Este principio refiere que, todo individuo tiene derecho a tomar decisiones respecto a su salud, participación y esta a su vez es respetada. No aplica para animales de experimentación.

2.7.2 Principio de beneficencia

Este principio refiere que, se debe actuar frente a un problema solo si se tiene la capacidad de hacer el bien a otros y que esto debe ser con la intención de hacerlo por el bien de otros. La investigación con animales requiere calificación y competencia científica y ética de los investigadores, además de la experiencia necesaria para realizar determinados

procedimientos con animales. Una cualidad imprescindible en cada uno de los investigadores es el debido interés humanitario por el bienestar de los animales de experimentación.

2.7.3. Principio de no maleficencia

Este principio refiere que, no se debe causar daño y actuar con la intención de disminuir el riesgo de producir daño alguno. El deber ético fundamental de no causar daño, mediante procedimientos de investigación, equivale a no hacerle mal a un animal y por ende al ecosistema; este deber es inseparable del precepto de justicia, en cuanto que ambos deberes cobijan a todos los seres vivos por igual. Y por tal motivo, puede exigirse su cumplimiento en forma coactiva. A partir de estos dos deberes, hombres y animales merecen ser tratados como lo que son desde lo moral y lo legal: seres vivos, sensibles, que tienen necesidades vitales y sienten dolor.

2.7.4. Principio de justicia

Este principio refiere que, no debe existir ningún tipo de discriminación en la selección de sujetos de estudio. Uno de los peligros para la ética de la investigación en animales y que afecta el principio de justicia, está contenido en el modelo de sociedad hoy dominante, y es el de un exagerado antropocentrismo.

III. RESULTADOS

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados conseguidos en el ensayo de solubilidad realizado al extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma).

Tabla 1. Resultados del ensayo de solubilidad al extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma)

Tubo N°	Disolvente	Resultado
1	Éter de petróleo	-
2	Diclorometano	-
3	Cloroformo	-
4	n-butanol	-
5	Acetato de etilo	-
6	n-propanol	-
7	Etanol	+++
8	Metanol	++
9	Agua	+++

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) es insoluble en disolventes apolares y de polaridad media pero si es muy soluble en disolventes polares como etanol, metanol y agua.

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados conseguidos en el tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma).

Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico al extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lucuma)

Tubo N°	Ensayo	Metabolito	Resultado
1	Bornträger	Quinonas	++
2	Cloruro férrico	Comp. fenólicos	+++
3	Shinoda	Flavonoides	+
4	NaOH	Antocianinas	-
5	Gelatina	Taninos	++
6	Gelatina-Sal	Taninos	++
7	Wagner	Alcaloides	+
8	Mayer	Alcaloides	+
9	Liebermann-burchard	Triterpenos esteroides	-
10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	+
11	Benedict	Azúcares reductores	++
12	Fehling	Azúcares reductores	++
13	Molish	Carbohidratos	+

Fuente: Elaboración propia

En la tabla anterior se muestran que el extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) presenta los metabolitos secundarios quinonas, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides y lactonas α,β -insaturadas. Además, presenta azúcares reductores y carbohidratos.

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados conseguidos en el ensayo farmacológico al extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma).

Tabla 3. Resultados del ensayo farmacológico.

GRUPOS	N° RATONES	T1: 30 minutos	Promedio
Grupo I: Solución salina 0.9% 5 mL/kg	1	22	19.83
	2	19	
	3	19	
	4	20	
	5	18	
	6	21	
Grupo II: Ácido acetil salicílico 150 mg/kg	1	5	4.5
	2	3	
	3	5	
	4	3	
	5	7	
	6	4	
Grupo III: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 150 mg/kg	1	19	18.83
	2	17	
	3	20	
	4	20	
	5	19	
	6	18	
Grupo IV: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 250 mg/kg	1	15	14.83
	2	14	
	3	14	
	4	15	
	5	16	
	6	15	
Grupo V: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 500 mg/kg	1	12	10.0
	2	11	
	3	9	
	4	8	
	5	10	
	6	10	

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que en el ensayo farmacológico los grupos control, ácido acetil salicílico y las soluciones de extracto administradas a las dosis 150 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg presentaron 19.83, 4.5, 18.83, 14.83 y 10.0 contorsiones abdominales promedio, respectivamente. Evidenciando un efecto analgésico creciente dependiente de la dosis.

Para determinar si el estadístico necesario para contrastar la hipótesis planteada en esta investigación es el test de Dunnett o T3 de Dunnett es necesario determinar si existe homogeneidad en las varianzas, si existe distribución normal y que existe diferencias en las medias, en los resultados.

El test de Dunnett parte del supuesto de que existe distribución normal en los resultados del ensayo farmacológico, para determinar esto se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 4. Test de Shapiro-Wilk.

	Grupos		Shapiro-Wilk		
			Estadístico	gl	Sig.
Contorsiones abdominales	Control		,958	6	,804
	Ácido acetil salicílico		,902	6	,389
	Extracto 150 mg/kg	150	,908	6	,421
	Extracto 250 mg/kg	250	,866	6	,212
	Extracto 500 mg/kg	500	,982	6	,960

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral en el test de Shapiro-Wilk, en todos los grupos es mayor al 0.05. Esto, es evidencia de que existe distribución normal en el número de contorsiones abdominales que presentaron los diferentes grupos de ratones incluidos en el ensayo farmacológico.

El test de Dunnett parte del supuesto de que existe homogeneidad de varianzas en los resultados del ensayo farmacológico, para determinar esto se usó el test de Levene como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 5. Test de Levene.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Contorsiones abdominales			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,733	4	25	,578

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral en el test de Levene, es mayor al 0.05. Esto, es evidencia de que existe homogeneidad en las varianzas del número de contorsiones abdominales que presentaron los diferentes grupos de ratones incluidos en el ensayo farmacológico.

El test de Dunnett parte del supuesto de que existe diferencias entre las medias de los resultados del ensayo farmacológico, para determinar esto se usó ANOVA ya que existe homogeneidad en las varianzas y distribución normal. En la siguiente tabla se muestra a detalle el ANOVA.

Tabla 6. ANOVA de los resultados del ensayo farmacológico

ANOVA					
Contorsiones abdominales					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	981,200	4	245,300	146,0	,000
Dentro de grupos	42,000	25	1,680	12	
Total	1023,200	29			

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el ANOVA muestra una significancia asintótica bivariado mayor menor al 0.05. Esto, evidencia que existe diferencia entre las medias del número de contorsiones abdominales que presentaron los diferentes grupos de ratones incluidos en el ensayo farmacológico.

La siguiente tabla muestra las comparaciones múltiples por el test de Dunnett para determinar si algún grupo presentó menor número de contorsiones promedio en el ensayo farmacológico.

Tabla 7. Comparaciones múltiples por el test de Dunnett

Comparaciones múltiples						
T de Dunnett (<control) ^a						
(I) Grupos	(J)	Diferencia	Error	Sig.	95% de intervalo de confianza	
	Grupos	de medias (I-J)	estándar		Límite superior	
Ácido salicílico	acetil Control	-15,333*	,748	,000	-13,63	
Extracto 150 mg/kg	Control	-1,000	,748	,249	,70	
Extracto 250 mg/kg	Control	-5,000*	,748	,000	-3,30	
Extracto 500 mg/kg	Control	-9,833*	,748	,000	-8,13	

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

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los grupos experimentales extracto 250 mg/kg y 500 mg/kg una significancia asintótica bilateral menor al 0.05 con el test de Dunnett. Esto muestra que los grupos experimentales extracto 250 mg/kg y 500 mg/kg presentaron una diferencia estadísticamente significativa, respecto al control y que esa diferencia es a favor de los grupos experimentales extracto 250 mg/kg y 500 mg/kg. Pero el grupo experimental extracto 150 mg/kg no presentó diferencia estadísticamente significativa, ya que su valor de significancia asintótica bilateral fue mayor al 0.05.

IV. DISCUSIONES

4.1. Discusión

El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) presenta los metabolitos secundarios quinonas, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides y lactonas α,β -insaturadas. De la misma manera, Guerrero, P. *et al* (2019) identificaron taninos, compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos en el extracto metanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma), provenientes de Cañete-Lima, mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (28). También, Guerrero, P. (2018) en su tesis identificó flavonoides, saponinas, cumarinas y taninos en un extracto metanólico de semillas de *Pouteria lucuma*, proveniente de Lima, mediante técnicas de coloración y precipitación (14). Pero, otras investigaciones en especies de la familia Sapotaceae evidenciaron resultados similares como Gopalkrishnan, B. *et al.* (2016) en una investigación evidenciaron la presencia de terpenoides, quinonas, glicósidos cardiotónicos (presenta lactona α,β -insaturada), compuestos fenólicos y taninos en el extracto etanólico de las semillas de *Madhuca longifolia*, proveniente de la India, mediante técnicas de coloración y precipitación (29). Sinaga, M. *et al.* (2016) identificaron alcaloides, saponinas, quinonas, compuestos fenólicos, glicósidos cardiotónicos y flavonoides en el extracto metanólico de las semillas de *Azadirachta indica*, proveniente de Etiopia, mediante técnicas de coloración y precipitación (30). La variabilidad de metabolitos secundarios en las semillas de 3 especímenes diferentes de la misma especie que crecen en ambientes diferentes, responde a factores edáficos y ambientales (41).

En el ensayo farmacológico los grupos control, ácido acetil salicílico y las soluciones de extracto administradas a las dosis 150 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg presentaron 19.83, 4.5, 18.83, 14.83 y 10.0 contorsiones abdominales promedio, respectivamente. Evidenciando un efecto analgésico creciente dependiente de la dosis. Algunos autores evidenciaron efecto analgésico en otra especie del mismo género *Pouteria* y también en especies de la familia Sapotaceae como Matos, P. (2016), evaluó el efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Pouteria ramiflora*, la prueba de formalina y aumento de presión en la pata, evidenció reducción en respuesta

hipernociceptiva, 5 g/kg de extracto no mostró toxicidad, concluyen que si existe actividad farmacológica (26) Pero, Souza, J. *et al.* (2016) evidenciaron el efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto etanólico de raíz de *Pouteria ramiflora*, en 120 mg/kg, 600 mg/kg y 1200 mg/kg, disminuyen el número de células inflamatorias y de contorsiones abdominales en ratones inducidos a inflamación con carragenina y a dolor con ácido acético, respectivamente, y aumentando el tiempo de reacción en el test de plancha caliente en las patas de ratones (27).

El efecto analgésico evidenciado por la administración oral de soluciones del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) a las dosis 250 mg/kg y 500 mg/kg en ratones inducidos a dolor con ácido acético puede ser debido a la presencia de compuestos fenólicos. Ya que gran parte de los analgésicos del grupo farmacológico antiinflamatorios no esteroides son compuestos fenólicos (42). Además, el ácido protocatequínico, un compuesto fenólico del extracto de las semillas de *Pouteria lucuma*, (28) presenta efecto analgésico en ratones (43).

4.2. Conclusiones

- El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) si presenta efecto analgésico en ratones albinos a las dosis de 250 mg/kg y 500 mg/kg.
- El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) es muy soluble en disolventes polares como el etanol, metanol y agua.
- El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) presenta quinonas, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides y lactonas α,β -insaturadas.
- El extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) no presentó efecto analgésico a la dosis de 150 mg/kg sin embargo si presentó efecto analgésico a la dosis de 250 mg/kg y 500 mg/kg pero

menor efecto analgésico que el grupo control positivo compuesto por el ácido acetil salicílico a la dosis de 150 mg/kg en ratones albinos.

4.3. Recomendaciones

- Para obtener nuevos resultados se recomienda realizar investigaciones con semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) provenientes de otras regiones
- Se recomienda realizar posteriores investigaciones para determinar el efecto analgésico de las fracciones y compuestos aislados a partir del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma).
- Realizar investigaciones para determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma* (Lúcuma) con otros diseños experimentales para determinar su mecanismo de acción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Directrices de la OMS sobre el tratamiento farmacológico del dolor en niños con enfermedades médicas [Internet]. 2012. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77943/9789243548128_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Camargo D, Jimenez J, Archila E, Villamizar M. El dolor: una perspectiva epidemiológica. Salud UIS [Internet]. 2004;36(1):40–51. Available from: <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/712>
3. Van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. Br J Anaesth [Internet]. 2013;111(1):13–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23794640>
4. Casals M. Epidemiología, prevalencia y calidad de vida del dolor crónico no oncológico. Estudio Itaca. Rev Soc Esp Dolor [Internet]. 2004;11(5):260–9. Available from: <http://scielo.isciii.es/pdf/dolor/v11n5/original1.pdf>
5. Monroy A, Méndez BA, Diestro GL, Ruiz E, Málaga G. Fibromialgia, trayectoria y calidad de vida en un hospital de tercer nivel de Lima-Perú. ACTA MEDICA Peru [Internet]. 2019;36(1):32–7. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v36n1/a06v36n1.pdf>
6. Henschke N, Kamper SJ, Maher CG. The epidemiology and economic consequences of pain. Mayo Clin Proc [Internet]. 2015;90(1):139–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.09.010>
7. Organización mundial de la salud (OMS). Manejo del abuso de sustancias. 2014.
8. Divins M. Analgésicos opiáceos. Farm Prof [Internet]. 2012;26(1):22–226. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-analgésicos-opiáceos-X0213932412941155>
9. Comisión Global de Política de Drogas. La crisis de opioides en Norteamérica [Internet]. 2017. Available from: <http://www.globalcommissionondrugs.org/wp-content/uploads/2017/11/2017-GCDP-Position-Paper-Opioid-Crisis-SPA.pdf>

10. García Ríos DH. Caracterización de algunos metabolitos primarios y secundarios en dos variedades comerciales de lúcumá (*Pouteria lucuma*) [Internet]. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2016. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2232/L73-C6-T.pdf>
11. Silva CAM, Simeoni LA, Silveira D. Genus *Pouteria*: Chemistry and biological activity. *Brazilian J Pharmacogn* [Internet]. 2009;19(2 A):501–9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000300025
12. Gupta M, Nath R, Srivastava N, Shanker K. Actividades antiinflamatorias y antipiréticas del β -sitosterol. *Planta Med* [Internet]. 1980;39(6):157–63. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2008-1074919>
13. Abdul-wahab I, Carvalho C, Dias P, Boylan F. Actividad anti-nociceptiva de *Pereskia bleo* Kunth . (*Cactaceae*) extractos de hojas. *Rev Etnofarmacología* [Internet]. 2012;144(3):741–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874112007015?via%3Dihub>
14. Guerrero Castillo P. Estudio fitoquímico del aceite y del extracto metanólico hidrofílico de las semillas de Lúcumá (*Pouteria lucuma*) procedentes de Chilca, Cañete [Internet]. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2018. Available from: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/12137>
15. Shao B, Hongzhu G. Steroidal saponins from *Smilax china* and their anti-inflammatory activities. *Phytochemistry* [Internet]. 2007;68(5):623–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942206006856?via%3Dihub>
16. Mejía Ríos CV. Evaluación de metabolitos secundarios y propiedades antioxidantes e hipoglucemiante de lúcumá (*Pouteria lucuma*) en dos

- estados de madurez [Internet]. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2017. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3047>
17. Ortega Andrade S. Propagación de *Pouteria lucuma* O. Ktze. El D Ficaya Emprend [Internet]. 2015;(4):1–4. Available from: <http://www.utn.edu.ec/ficayaemprende/?p=415>
 18. Cárdenas Escobar L. Efecto de las temperaturas y tipos de congelación en las propiedades sensoriales y fisico-químicas en la conservación de pulpa de Lúcumá (*Pouteria obovata*) [Internet]. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2012. Available from: [http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2665/Cárdenas Escobar.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2665/Cárdenas%20Escobar.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
 19. Da silva M, Galvez L, Apostolidis E, Lajolo F. Evaluation of antihyperglycemia and antihypertension potential of native peruvian fruits using in vitro models. *J Med Food* [Internet]. 2009;12(2):278–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19459727/>
 20. Álvarez Morezuelas M. Rasgos psicológicos y percepción del dolor en pacientes con fibromialgia [Internet]. Universidad de Oviedo; 2015. Available from: <http://fibro.pro/wp-content/uploads/2017/06/113.pdf>
 21. Zegarra Pierola J. Bases fisiopatológicas del dolor. *Acta Med Per.* 2007;24(2):105–8.
 22. Mesas Idañez A. Dolor Agudo y Crónico. Clasificación del Dolor. Historia clínica en las Unidades de Dolor [Internet]. 2012. Available from: <https://www.academia.cat/files/425-11062-DOCUMENT/DolorAgutlCronic.pdf>
 23. Del Arco J. Curso básico sobre dolor: Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. *Farm Prof* [Internet]. 2015;29(1):36–43. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-dolor-tema-X0213932415727485>
 24. Anbar M, Gratt B. Role of Nitric Oxide in the Physiopathology of Pain. *J pain Sympom Manag* [Internet]. 1997;14(4):225–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9379070>

25. Zieglgänsberger W, Toile TR. The pharmacology of pain signalling. *Curr Opin Neurobiol* [Internet]. 1993;3(4):611–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8219729>
26. Matos P. Atividade biológica e estudo químico das folhas de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk [Internet]. Universidad de Anhanguera-UNIDERP; 2016. Available from: <https://repositorio.pgsskroton.com.br/bitstream/123456789/3788/1/PATRÍCIA DANIELE MATOS FERREIRA GOMES.pdf>
27. Souza J, Fontes E, Nascimento J, Santos N, Espindola L, Ferreira V. Antinociceptive and antiinflammatory properties of the ethanolic extract of *pouteria ramiflora* roots. *Rev Lat Am J Pharm* [Internet]. 2016;28(06):812–8. Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7840>
28. Guerrero P, Reyes S, Robles J, Simirgiotis MJ, Sepulveda B, Fernandez-Burgos R, et al. Biological activity and chemical characterization of *Pouteria lucuma* seeds: A possible use of an agricultural waste. *Waste Manag* [Internet]. 2019;88:319–27. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.055>
29. Gopalkrishnan B, Ringmichon CL. Pharmacognostic evaluation on seeds of *madhuca longifolia* (Koen.) Macbr. Var. *latifolia* (Roxb.) A. cheval. *Pharmacogn J*. 2016;8(1):37–41.
30. Sinaga M, Ganesan K, Kumar S, Nair P, Gani SB. Preliminary phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of bark and seeds of Ethiopian Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *World J Pharm Pharm Sci* [Internet]. 2016;5(4):1714–23. Available from: www.wjpps.com
31. Ramírez M, Cruz A, Rodríguez C. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *hematobia irritans* L. (Diptera: muscidae). *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2009;12(1):69–78. Available from: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/643/633>
32. Josep M. Analgésicos. *Farm Prof* [Internet]. 2015;29(6):17–21. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf>

X0213932415442083

33. Hernandez-Sampieri R, Mendoza CP. Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1st ed. Mexico: Mc graw-hill; 2018. 714 p.
34. Campos y Covarrubias G, Lule Martínez N. La observación, un método para el estudio de la realidad. Xihmai. 2012;7(13):45–60.
35. La Quintana RM De, Paucar-Menacho LM. Lucuma (*Pouteria lucuma*): Composition, bioactive components, antioxidant activity, uses and beneficial properties for health. Sci Agropecu. 2020;11(1):135–42.
36. Mejia CV. Evaluación de metabolitos secundarios y propiedades antioxidantes e hipoglucemiante de lúcumo (*Pouteria lucuma*) en dos estados de madurez [Internet]. [Lima]: Universidad nacional la molina; 2017. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3047/Q04-M457-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
37. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
38. Bonilla PE, Arroyo J, Lozano NM, Beltrán H, Alba A, Aguedo J, et al. Composición química y actividad farmacológica del extracto etanólico de *Satureja sericea* (goyal). Cienc Invest [Internet]. 2011;14(1):14–20. Available from: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3177>
39. Parimelazhagan T. Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products [Internet]. Rainsford KD, editor. Vol. 71. Springer; 2016. 182 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-26811-8>
40. 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 [Internet]. 1969;169(1):29–38. Available from: <http://jpet.aspetjournals.org/content/169/1/29>

41. Karimi A, Krämer A, Herwig N, Schulz H, Hadian J, Meiners T. Variation of Secondary Metabolite Profile of *Zataria multiflora* Boiss. Populations Linked to Geographic, Climatic, and Edaphic Factors. *Front Plant Sci.* 2020;11(July):1–15.
42. Katzung BG. *Farmacologia basica y clinica*. 14th ed. Mexico: Mc graw-hill; 2019. 1250 p.
43. Lende AB, Kshirsagar AD, Deshpande AD, Muley MM, Patil RR, Bafna PA, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of protocatechuic acid in rats and mice. *Inflammopharmacology*. 2011;19(5):255–63.

ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de la variable o variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala	Valor
Extracto etanólico de semillas de <i>Pouteria lucuma</i> .	Es una disolución de principios activos de una planta o parte de esta en un medio líquido que actúa de disolvente, el solvente empleado es el etanol	se empleó la prueba de solubilidad y la técnica de coloración y precipitación denominado marcha fitoquímica.	Reacciones de coloración y precipitación - Marcha fitoquímica	Metabolitos secundarios (Quinonas Compuestos fenólicos Terpenos Alcaloides Lactonas α,β -insaturadas Taninos Antocianinas Flavonoides Saponinas)	Nominal	Ausencia (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (+++) Muy abundante (++++)
			Solubilidad	Soluble e insoluble	Nominal	Insoluble Poco soluble Parcialment e soluble Soluble Muy soluble
Efecto analgésico del Extracto etanólico de semillas de <i>Pouteria lucuma</i>	Es la capacidad que tienen algunas sustancias de suprimir o aliviar la sensación dolorosa.	Se evaluó la cantidad de contorsiones abdominales en ratones albinos en relación a grupos en estudio	Dosis oral para evaluación de efecto analgésico 150 mg/kg	Número de contorsiones abdominales.	Razón	No analgésico. Analgésico
			Dosis oral para evaluación de efecto analgésico 250 mg/kg	Número de contorsiones abdominales.	Razón	No analgésico. Analgésico
			Dosis oral para evaluación de efecto analgésico 500 mg/kg	Número de contorsiones abdominales.	Razón	No analgésico. Analgésico

Anexo B. Instrumentos de recolección de datos

PRUEBA DE SOLUBILIDAD Y TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Investigador(a): TORRES VALER, AEROLINDA
CRUZ VEGA, NELLY

Muestra: Extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lúcum*

Fecha:

Ensayo de solubilidad

Tubo N°	Disolvente	Resultado
1	Éter de petróleo	
2	Diclorometano	
3	Cloroformo	
4	n-butanol	
5	Acetato de etilo	
6	n-propanol	
7	Etanol	
8	Metanol	
9	Agua	

-: Insoluble; +: Poco soluble; ++: Parcialmente soluble; +++: Soluble ++++: Muy soluble

Fuente: Elaboración propia

Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios

Tubo N°	Ensayo	Metabolito	Resultado
1	Bornträger	Quinonas	
2	Cloruro férrico	Comp. fenólicos	
3	Shinoda	Flavonoides	
4	NaOH	Antocianinas	
5	Gelatina	Taninos	
6	Gelatina-Sal	Taninos	
7	Wagner	Alcaloides	
8	Mayer	Alcaloides	
9	Liebermann-burchard	Triterpenos esteroides	
10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	
11	Benedict	Azúcares reductores	
12	Fehling	Azúcares reductores	
13	Molish	Carbohidratos	

(-): Ausencia; (+): Leve; (++) : Moderado; (+++) : Medio; (++++): Abundante

Fuente: Elaboración propia

Ficha de recolección de datos para evaluación de efecto analgésico por contorsiones abdominales inducidas con ácido acético

ENSAYO FARMACOLÓGICO

Investigador(a): TORRES VALER, AEROLINDA
CRUZ VEGA, NELLY

Muestra: Extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma*

Fecha:

1. Grupo perteneciente:.....
2. Modelo de estudio:.....
3. Sustancia de inducción al dolor:.....
 - Área de aplicación:.....
 - Dosis:.....
 - Hora de aplicación:.....
4. Sexo:.....
5. Tratamiento analgésico
 - Solución salina 0.9% 5 mL/Kg:
 - Ácido acetil salicílico 150 mg/kg:
 - Solución del extracto etanólico de semilla de *Pouteria lucuma* 150 mg/Kg
 - Solución de extracto etanólico de semilla de *Pouteria lucuma* 250 mg/Kg
 - Solución de extracto etanólico de semilla de *Pouteria lucuma* 500 mg/Kg
6. Hora de inicio del tratamiento:.....
7. Fecha inicial:.....
8. Fecha final:.....

Ficha de determinación analgésica de grupos

DETERMINACIÓN ANALGÉSICA DE GRUPOS EN DIFERENTES TIEMPOS

Investigador(a): TORRES VALER, AEROLINDA
CRUZ VEGA, NELLY

Fecha:

Muestra: Extracto etanólico de las semillas de *Pouteria lucuma*

GRUPOS	N° RATONES	T0: 0 minutos	T1: 30 minutos
Grupo I: Solución salina 0.9% 5 mL/Kg	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Grupo II: Ácido acetil salicílico 150 mg/kg	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Grupo III: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 150 mg/Kg	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Grupo IV: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 250 mg/Kg	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Grupo V: Solución de extracto etanólico de semilla de <i>Pouteria lucuma</i> 500 mg/Kg	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

Observaciones:.....

Anexo C. Evidencias de trabajo de campo

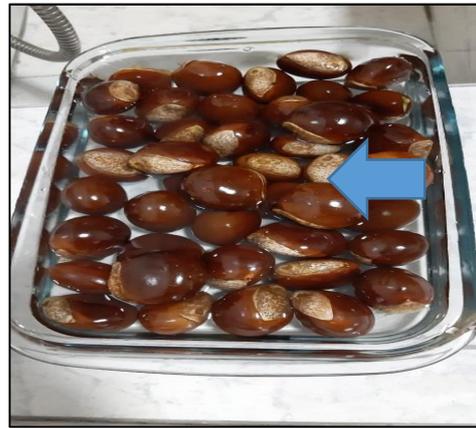




Figura 1. Tratamiento y maceración de semillas de Lúcumá

Figura 2. Preparación de soluciones – Ensayo farmacológico





Figura 3. Ensayo Fitoquímico

