

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Tesis para optar al grado de Químico Farmacéutico

Título:

**Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de
Erythroxylum coca (coca) en *Mus musculus var. albinus***

AUTOR:

BR. Yessenia Almendra Guevara Bocanegra

Asesor: Mg. César Braulio Cisneros Hilario

NVO. CHIMBOTE – PERÚ

2018

Palabras clave: *Erythroxylum coca*, ácido acético, analgésico, antinociceptivo

Keywords: *Erythroxylum coca*, acetic acid, analgesic, antinociceptive

Línea de Investigación: 04050302 (Química de los productos naturales).

**Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de
Erythroxylum coca (coca) en *Mus musculus var. albinus***

DEDICATORIA

A Dios por su infinito amor, por ser mi fuente de fortaleza, por guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia por haberme forjado en el hábito de la enseñanza y los buenos valores, quienes por ellos soy lo que soy.

A mi madre y hermanas por su apoyo, consejos, comprensión, dedicación y ayuda en los momentos difíciles y por darme los recursos necesarios para poder estudiar y llegar a este logro.

DERECHO DE AUTORÍA

Yo, **Yessenia Almendra Guevara Bocanegra** autora de la tesis titulada: “*Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de **Erythroxylum coca** (coca) en **Mus musculus var. Albinus**”*”, soy responsable del contenido y resultado expuesto en esta tesis.

De esta manera manifiesto que el patrimonio intelectual de dicha tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico de esta Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica la cual pertenece a la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro.

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO:

De conformidad a lo estipulado por el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad San Pedro para la obtención de Título Profesional de Químico Farmacéutico, pongo a vuestra consideración la tesis titulada: “*Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de **Erythroxylum coca** (coca) en **Mus musculus var. Albinus**”.*

Es propicia esta oportunidad para manifestar mi más sincero agradecimiento y reconocimiento a nuestra alma mater y a toda la destacada plana docente que compartiendo sus conocimientos han contribuido a mi formación académica y profesional.

Chimbote, julio de 2018

BR. Yessenia Almendra Guevara Bocanegra

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (coca) *Mus musculus var. albinus*, utilizando el método de las constricciones abdominales inducidas por ácido acético. El estudio fue experimental y se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, utilizándose 42 ratones albinos cepa Balb/C de ambos sexos distribuidos de manera aleatoria en 7 grupos, de 6 ratones con 25 ± 5 g de peso corporal, donde todos los grupos recibieron 10 ml/ kg de ácido acético al 0.6% vía intraperitoneal y los tratamientos se administraron con media de anticipación SSF 5 mL/Kg, paracetamol 200 mg/kg, diclofenaco 8 mg/kg, tramadol 5 mg/kg, y extracto en dosis de 50, 100, y 200 mg/kg respectivamente, se consideró la medida las constricciones abdominales durante 5 minutos. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Excel, donde se evaluó la estadística descriptiva y análisis de varianza, considerando para cada caso una $p < 0,05$. Se encontró que mayor efecto analgésico del extracto de coca se alcanzó con dosis de 200 mg/kg, además de ser dosis dependiente con un efecto máximo mayor que el diclofenaco 8 mg/kg pero menor que el tramadol 5 mg/kg. Concluyéndose que el extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* en condiciones experimentales presentan efecto analgésico en ratones.

Palabras clave: *Erythroxylum coca*, ácido acético, analgésico, antinociceptivo

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the analgesic effect of the ethanolic extract of the leaves of *Erythroxylum coca* (coca) in *Mus musculus var. albinus*, using the method of abdominal constrictions induced by acetic acid. The study was experimental and developed in the laboratories of the Faculty of Human Medicine, University San Pedro, used 42 albino mice Balb / C of both distributed sexes randomly in seven groups of 6 mice with 25 ± 5 g of body weight, where all groups received 10 ml / kg of acetic acid 0.6% intraperitoneally and treatments were administered with half prior SSF 5 mL / kg, paracetamol 200 mg / kg, diclofenac 8 mg / kg, tramadol 5 mg / kg, and extract in doses of 50, 100, and 200 mg / kg respectively, the measure was considered the abdominal constrictions during 5 minutes. For the statistical analysis, the Excel statistical program was used, where the descriptive statistics and analysis of variance were evaluated, considering for each case a $p < 0.05$. It was found that greater analgesic effect of coca extract was reached with a dose of 200 mg / kg, in addition to being dose dependent with a greater maximum effect than diclofenac 8 mg / kg but less than tramadol 5 mg / kg. It is concluded that the ethanolic extract of *Erythroxylum coca* leaves under experimental conditions has an analgesic effect in mice.

Keywords: *Erythroxylum coca*, acetic acid, analgesic, antinociceptive

ÍNDICE

CARATULA	
DEDICATORIA.....	iii
DERECHO DE AUTORÍA.....	iv
PRESENTACIÓN.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACIÓN CENTÍFICA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.3. PROBLEMA.....	3
1.4. CONCEPTUALIZACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	4
1.5. HIPÓTESIS.....	10
1.6. OBJETIVOS.....	10
II. METODOLOGÍA.....	11
2.1. Tipo y diseño de la investigación.....	11
2.2. Población y muestra.....	11
III. RESULTADOS.....	15
IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	18
V. CONCLUSIONES.....	21
VI. RECOMENDACIONES.....	22
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
VIII. ANEXOS Y APÉNDICES.....	28

I. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA

El dolor es una experiencia subjetiva compleja compuesta que consiste en la sensación real o potencial de daño tisular acompañado de un componente afectivo. El dolor agudo se origina con un estímulo nocivo y causando una reacción inmediata de alarma (corresponde a un dolor fisiológico). Sin embargo, el dolor crónico, que puede ser inflamatorio o neuropático y subyacente o no a alguna afección, ha perdido su característica de defensa por lo tanto no aporta al proceso curativo sino al contrario, empeora la calidad de vida y aumenta el sufrimiento de quien lo padece (corresponde a un dolor patológico). Luego de la injuria, se liberan mediadores inflamatorios como prostaglandinas, citoquinas, bradiquinina, interleucinas, protones entre otros, los que sensibilizan a los nociceptores por lo tanto estímulos nocivos serán transmitidos más rápido que en una condición sin inflamación. Citoquinas interaccionan con células neuronales y no neuronales pudiendo potencialmente modificar la transmisión sináptica y nocicepción. Esto se refleja en una reacción dolorosa, generando nuevos canales de sodio, responsables de descargas espontáneas, originando un dolor permanente en ausencia de estimulación periférica (Mitchell, 2009).

Los productos de origen vegetales como las plantas, frutas y verduras contienen pigmentos naturales que protegen al organismo humano, del daño producido por agentes oxidantes (Aherne, 2002). Se ha utilizado preparaciones o medicamentos herbarios desde épocas antiguas, en muchas partes del mundo. En

la actualidad ha aumentado el uso de estos productos en países desarrollados (Corns, 2003; Barnes, 2003; Rousseaux, 2003)

El *Erythroxylum coca*, es una planta nativa del Perú, de valles calientes y húmedos de la cordillera de los andes, que crece a 600 y 2000 msnm, cultivada desde tiempos remotos (2100 AC aprox.) (Villar, 2001) cuyas hojas vienen siendo utilizadas por los habitantes de la zona por sus diversas propiedades terapéuticas (Pelzer, 1998; Raj, 2001).

1.2.JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presencia de plantas medicinales fue muy notoria en todas las farmacopeas del mundo hasta los años 40–50, después los medicamentos sintéticos sobrepujaban fuertemente a las plantas medicinales en la terapéutica médica, sin embargo, hoy en día el 80% de la población mundial no tiene acceso al sistema moderno de salud, lo que ha conllevado a que las plantas medicinales se constituyan como una de las fuentes principales de tratamiento de enfermedades (Farnsworth, 1985).

Los productos de origen vegetal obtenidos de las hojas, raíces, cortezas, frutos, o planta entera, constituyen una fuente importante de nuevas moléculas de gran complejidad y especificidad, esto es demostrado por el hecho de que gran parte del arsenal terapéutico internacional tiene su origen en ellas (Villaescusa, 2000). El Perú, tercer país más mega diverso del planeta, debido a sus diversos pisos ecológicos y microclimas que presenta 84 zonas de vida de las 103 conocidas.

Donde habría 50 mil especies vegetales (20% de las existentes en la Tierra) de las que 2,000 han sido utilizadas con fines curativos (Li, 2010).

Estudios realizados por Duke y Plowman revelan que la hoja de coca contiene nutrientes, como proteínas, carbohidratos, fibra, calcio, hierro, fósforo, vitamina A y riboflavina, que satisfacerían los requerimientos dietéticos del ser humano (Penny, 2009; Duke, 1975). Además, Collazos y col. y Duke J y col. señalan concentraciones de aproximadamente 7 mg de hierro y 6,47 mg de vitamina C por cada 100 g de hoja de coca (Duke, 1975; Collazos, 1975).

La coca tiene diversos usos, tanto en el ámbito internacional, como por ejemplo en la fabricación de anestésicos así mismo en la población andina tradicional, donde el uso más conocido es como estimulante para la interacción social, como medicina, instrumento para adivinar el futuro, para diagnosticar enfermedades y hasta como digestivo después de las comidas (Terran, 1980).

Por lo expuesto, la presente investigación Tuvo como objetivo de obtener el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*, para luego determinar su eficacia analgésica sobre las constricciones abdominales en ratones.

1.3.PROBLEMA

Por todas estas razones nos planteamos el problema si: ¿El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* tendrá efecto analgésico al administrarlo por vía oral en ratones con inducción de dolor a nivel abdominal?

1.4.CONCEPTUALIZACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

EL DOLOR

“El dolor es una experiencia subjetiva compleja compuesta por la sensación real o potencial de daño tisular que se acompaña de un fuerte componente afectivo, se origina con un estímulo nocivo y causa una reacción inmediata de alarma, corresponde a un dolor fisiológico. Sin embargo, el dolor “crónico”, que puede ser inflamatorio o neuropático y subyacente o no a alguna afección, ha perdido su característica de defensa por lo tanto no aporta al proceso curativo sino al contrario, ya que, empeora la calidad de vida y aumenta el sufrimiento de quien lo padece, por lo tanto es un dolor patológico. Para la respuesta a un estímulo nocivo (sea químico, térmico, de presión o de cualquier otra característica que pueda producir dolor), existen en la periferia unas estructuras sensibles a dichos estímulos: los nociceptores. Nociceptores son terminaciones nerviosas libres, que presentan una serie de proteínas, muy variadas y especializadas, que actúan como receptores de esa información nociceptiva y la transmiten al sistema nervioso central (SNC) por fibras nerviosas de tipo A δ y C. Estos receptores pueden ser canales iónicos (que modifican el tránsito de iones dentro y fuera de la neurona) o receptores metabotrópicos (es decir que generan cambios en la síntesis de proteínas citoplásmicas) (Goicoechea, 2006).

Los nociceptores periféricos envían la señal al asta dorsal de la médula espinal donde se produce sinapsis con neurona secundaria. La neurona periférica libera neurotransmisores excitatorios, tales como glutamato y sustancia P, los cuales causan en la neurona secundaria una descarga, enviando impulsos a través de sus proyecciones hacia el tronco encefálico y el tálamo; desde el tálamo se envía la información a la corteza cerebral (Mitchell, 2000).

La explicación fisiológica para la transmisión del dolor, Teoría de la Compuerta (The Gate Theory) propuesta por Melzack y col. (1965), explica que una vez estimulados los nociceptores, éstos inducen cambios en la carga eléctrica de la membrana neuronal, lo que resulta en la propagación ascendente del estímulo nervioso hacia el asa dorsal de la médula, como se dijo anteriormente. Allí se libera glutamato, un aminoácido excitador que se une a un receptor específico, denominado AMPA, que transmite la información hacia los centros superiores del SNC. Desde estos mismos núcleos superiores, se ponen en marcha vías descendentes que llegan de nuevo al asta dorsal de la médula y liberan sustancias endógenas inhibitoras (fundamentalmente opioides y GABA). Estas sustancias inhibitoras actúan modulando la transmisión del estímulo, por un lado disminuyendo la liberación de glutamato y por otra hiperpolarizando la membrana de la neurona postsináptica. También entran en juego unas interneuronas inhibitoras que, liberando también opioides endógenos, imitan y potencian el efecto inhibitor de las vías descendentes (Goicoechea y Martín, 2006).

Luego del daño a cualquier tejido se liberan mediadores inflamatorios tales como prostaglandinas, citoquinas, bradiquinina (Bk) y protones, los cuales sensibilizan a los nociceptores por lo tanto estímulos nocivos serán transmitidos más rápido que en una condición sin inflamación. Citoquinas interaccionan con células neuronales y no neuronales pudiendo potencialmente modificar la transmisión sináptica y nocicepción. Como ejemplo está la interleuquina 6 (IL-6) quien induce alodinia e hiperalgesia por su acción en el asta dorsal (Millan, 1999) Factores como isquemia, pH y destrucción de membranas activan: fosfolipasa A2, fosfolipasa C (PLC) y adenilatociclasa (AC), produciendo la cascada de activación del ácido araquidónico (Aq) y leucotrienos a partir de los fosfolípidos de membrana. Se induce así la síntesis de la enzima ciclo-oxigenasa (COX 2), por sobre la isoenzima constitutiva (COX 1), que actuando sobre Aq genera prostaglandinas (PG) especialmente la PG-E2 la cual se suma a la acción de sensibilización de nociceptores y de edema por incrementar la permeabilidad vascular. La activación de mastocitos cuya degranulación libera histamina aumenta vasodilatación y da mayor sensibilización del nociceptor. Los mediadores vasodilatadores activan a las plaquetas lo que incrementa localmente la serotonina, perpetuando la vasodilatación y sensibilización (De la Fuente, 2004).

Puede ocurrir tanto a nivel central como periférico una sensibilización neural que originará una importantísima amplificación de la señal nociceptiva. Esto se refleja en una reacción dolorosa desproporcionada, producto de un daño nervioso que genera nuevos canales de sodio, quienes son responsables de

descargas espontáneas, lo que finalmente origina un dolor episódico o permanente en ausencia de estimulación periférica (Mitchell, 2009).

Entre 10-20% de los nociceptores son del tipo silente, es decir, sin respuesta a injurias agudas, pero activables por la “sopa inflamatoria” (mezcla ácida de sustancias químicas liberadas cuando hay un daño importante en el tejido ej. prostaglandinas, potasio, COX-2, etc).

Compuestos pentacíclicos triterpénicos derivados del ácido oleanólico o del ácido ursólico existen ampliamente en la naturaleza en su forma como ácido o como agliconas de saponinas triterpénicas. Este tipo de saponinas exhiben diversas actividades, según los diferentes sustituyentes presentes en el núcleo, entre las cuales podemos mencionar actividad antitumoral, antiviral, hepatoprotectora, antiinflamatoria, antimicrobiana, gastroprotectora, entre otras. Uno de los mecanismos propuestos para explicar la actividad antiinflamatoria de estas saponinas es por inhibición de COX 1 y COX 2, donde la afinidad por una enzima o la otra dependerá de la estructura triterpénica (Sun y col, 2006).

Erythroxylum coca

La palabra coca Etimológicamente proviene del quechua “kuka” o “koka”, que debe de interpretarse “ku” o “ko”: parte más destacada o principal de algo, “ka” o “kau”: vivificante, que da vida, vigorosa y fuerte (Navarro, 1988). Donde el género *Erythroxylum*, se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales de Sudamérica (Burchard, 1978).

La planta de coca es un arbusto que crece de cinco a diez pies de altura, con hojas que tienen líneas aeroladas longitudinales muy claras que se curvan hacia la vena central con un engrosamiento de la epidermis. En la base del peciolo tiene estípulas ovaladas intrapeciolares características. Las flores de un blanco cremoso, miden más o menos un centímetro, con cinco sépalos y cinco pétalos. Cuando el fruto madura, dos de sus óvulos abortan, y los lóculos son destruidos. El fruto es una drupa roja, ovalada con una sola semilla. *Erythroxylum* es un género de 250 especies que se hallan distribuidos en las regiones tropicales de Sudamérica, no obstante que la mayoría de las especies contiene alcaloides relacionados con la cocaína, *Erythroxylum lambram* y *Erythroxylum novogranatense* son las especies más conocidas y extensamente cultivadas en el Perú (Machado, 1968).

USO TRADICIONAL

La coca es una planta mítica sagrada, cuyo uso ritual se remonta a más de 40 siglos, y es un componente indispensable hasta hoy, en el culto religioso. En el Perú, por la masticación de la hoja de coca, se consumen alrededor de 6 a 8 millones Kg/año o alrededor de 30 - 200 g diarios (Cabieses, 1993).

Se reportó el uso de la hoja de coca en la medicina tradicional, como analgésico gástrico, anoréxico, contra el dolor y las hemorragias, contra picaduras de arácnidos e insectos, estomacal y carminativa, contra el cansancio y fatiga, digestivo, dolor de muelas, asma. Así mismo se usa en gárgaras para aliviar el

dolor de garganta y la ronquera, en forma de emplastos por su acción analgésica en heridas y quemaduras, además por la acción de los taninos contribuye a la cicatrización y a la protección antiséptica (Brack, 1999).

La hoja de la coca, debido a la presencia de los alcaloides y los demás componentes, facilita la adaptación del hombre en los andes, debido a su acción anti fatigante, de gran poder para facilitar el funcionamiento de los pulmones y el corazón entre 3000 y 4700 msnm, y sobre todo para resistir el esfuerzo desplegado durante los diversos tipos de trabajo, agrícola, ganadero y minero. La cocaína presente en las hojas de coca generan una influencia saludable sobre el metabolismo oxidativo, disminuyendo el consumo de oxígeno por unidad de trabajo, evita el soroche en las grandes alturas restableciendo el equilibrio del cuerpo alterado por la hipoxia, reduce los efectos desagradables del frío gracias a los efectos vasoconstrictores que potencia la coca, Evita el stress ya que moviliza las reservas de glucosa y aumenta el nivel de esta en la sangre (Cabieses, 1992).

1.5.HIPÓTESIS

El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (coca) tiene efecto analgésico en ratones (*Mus musculus var. albinus*) con inducción de dolor por el método de writhing test.

1.6.OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (coca) en ratones (*Mus musculus var. albinus*).

Objetivos Específicos:

- Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*
- Realizar la marcha fitoquímica del extracto de las hojas de *Erythroxylum coca*
- Evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* en ratones.

II. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

El tipo de estudio es analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico in vivo.

2.2. Población y muestra

Población:

- Ratones albinos Cepa Balb/C, adquiridos en el biotério del INS Lima-Chorrillos

Muestra:

- Ratones albinos Cepa Balb/C 42 unidades (24 de cada sexo), con 25 ± 5 gramos de pesos corporal.

2.2.1. Técnicas e instrumentos de investigación

2.2.1.1. Adquisición de la muestra vegetal de la planta, obtención del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* y estudio fitoquímico

2.2.1.1.1. Colecta de la muestra vegetal

Las hojas de coca fueron adquiridas en la Empresa Nacional de la Coca Sociedad Anónima (ENACO). Pueblo libre, Lima-Perú.

2.2.1.1.2. Obtención del extracto (CYTED, 1995).

Para la preparación del extracto alcohólico, las hojas micropulverizadas se llevaron a maceración con etanol de 96° a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtró y dicho filtrado se desecó a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo seco, fue denominado extracto etanólico, el que fue conservado en frasco de color ámbar a 4°C, luego éste residuo sirvió para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución con agua destilada, utilizando como agente tensoactivo polisorbato de sodio 80° al 3% de la solución a preparar.

2.2.1.1.3. Estudio fitoquímico (Lock de Ugaz, 1994).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico *Erythroxylum coca* se realizó en los ambientes de laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones de Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann, Shinoda y Ninhidrina, Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, utilizando la siguiente codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++) , Abundante cantidad (+++).

2.2.1.2. Determinación del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (Pinardi, 2001).

2.2.1.2.1. Inducción experimental de la inflamación.

Para determinar el efecto analgésico, se utilizaron 42 ratones albinos cepa Balb/c 25 ± 5 g de peso corporal. Las cuales procedieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), las cuales fueron aclimatados 7 días antes de la experimentación y se alojaron en jaulas metálicas con alimento balanceado en pellets (ratonina) y agua a libertad a temperaturas 25 ± 1 °C, con 12 horas ciclo luz/oscuridad y humedad relativa aproximadamente 60%, luego se distribuirán de manera aleatoria en 7 grupos de seis ratones cada grupo, se utilizó el método de las contorsiones abdominales o writhing test o test de las contorsiones abdominales, 30 minutos antes de la experimentación se administraron los tratamientos a todos los grupos, se inicia la experimentación con la administración intraperitoneal de 10 ml/ kg se solución de ácido acético al 0.6%, a todos los grupos, produciendo un dolor tipo visceral, el cual se medirá contando el número de contorsiones que presentará el animal durante un período de 5 minutos, considerados a partir de los 5 minutos post inyección del ácido acético. Una contorsión fue definida como una contracción de los músculos abdominales acompañado de la elongación del cuerpo y extensión de una o ambas extremidades posteriores. Los resultados fueron expresados como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\% AN = 100 - [WE / WC \times 100]$$

donde: WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga,
y WC = número de contorsiones en los animales inyectados con salino
(controles)

- El grupo 01 recibe ácido acético (AA) + solución salina fisiológica
- El grupo 02 recibe ácido acético (AA) + Paracetamol 200 mg/Kg
- El grupo 03 recibe ácido acético (AA) + Diclofenaco 8 mg/Kg
- El grupo 04 recibe ácido acético (AA) + Tramadol 5 mg/Kg
- El grupo 05 recibe ácido acético (AA) + extracto de coca 50 mg/Kg
- El grupo 06 recibe ácido acético (AA) + extracto de coca 100 mg/Kg
- El grupo 07 recibe ácido acético (AA) + extracto de coca 200 mg/Kg

2.2.2. Procesamiento y análisis de la información.

Los datos fueron expresados mediante la estadística descriptiva utilizándose valores medios \pm error estándar (EE), límites inferior y superior a un intervalo de confianza del 95%, e inferencialmente por el análisis de varianza, los valores fueron significativos con una $p < 0,05$; para el cual se utilizó el programa estadístico SPSS.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*.

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Gelatina	Taninos	+++
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Mayer	Alcaloides	+++
Hidróxido de sodio	Quinonas	+
Alfa naftol	Glicósidos	-
Liebermann	Esteroides y triterpenos	+
Shinoda	Flavonoides	++
Ninhidrina	Aminoácidos libres	-

Leyenda: (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*, (+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

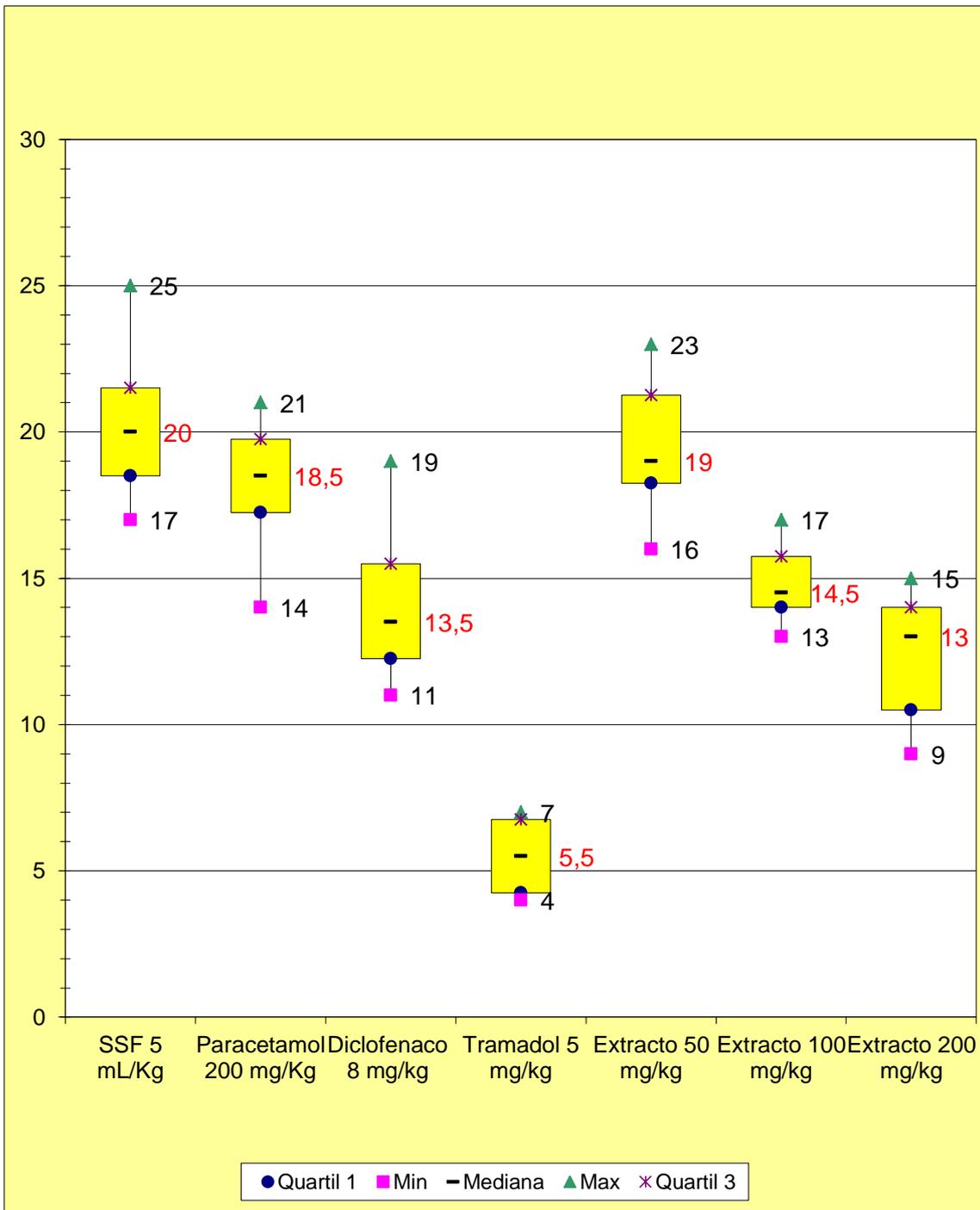


Figura N° 01. Valor medio de las contorsiones abdominales de los ratones al evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Eritroxylon coca*.

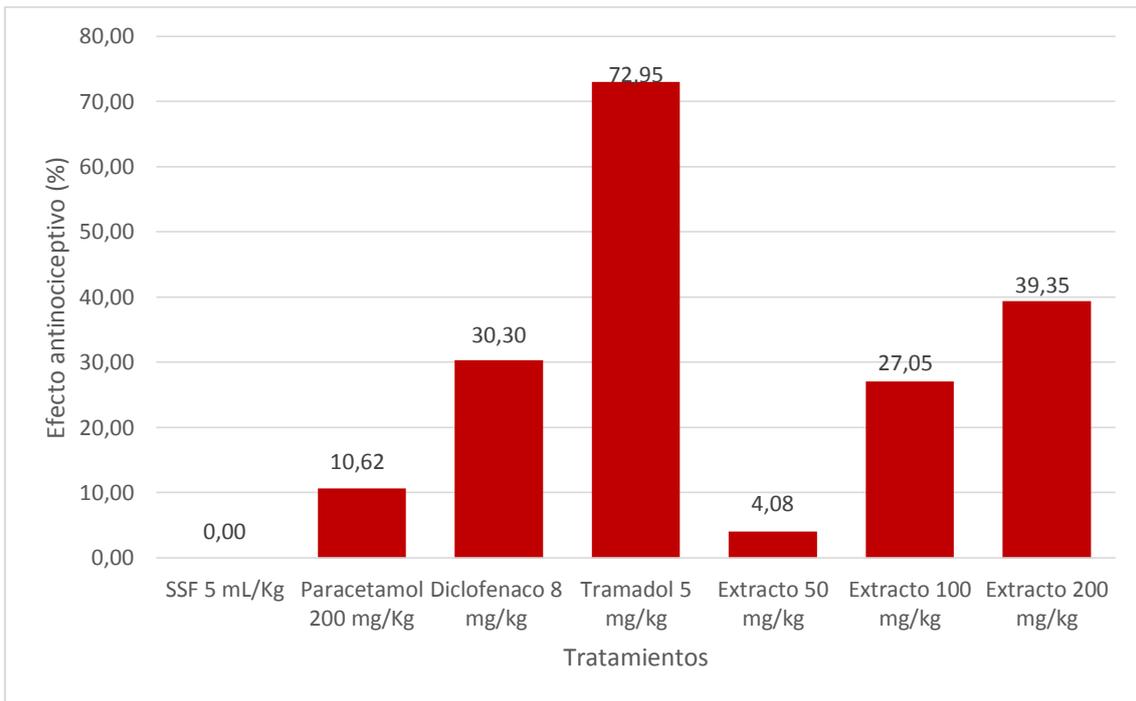


Figura N° 02. Porcentaje del efecto antinociceptivo al evaluar el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylon coca* sobre las contorsiones abdominales inducidas con ácido acético en ratones.

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Las hojas de coca fueron adquiridas en la Empresa Nacional de la Coca Sociedad Anónima (ENACO). Pueblo libre, Lima-Perú, en la presentación de hojas micropulverizadas las cuales siguieron el método del CYTED 1995, pasando los procesos unitarios de maceración, filtrado y evaporación, obteniéndose finalmente el extracto etanólico de *Erythroxylon coca*.

Para el estudio fitoquímico del extracto etanólico, se utilizó el método de Lock de Ugaz, 1994., donde se evidenció contener una gran cantidad de taninos, compuestos fenólicos y Alcaloides en mayor cantidad, flavonoides en mediana cantidad, y quinonas y esteroides en pequeña cantidad (Tabla 01).

Los resultados obtenidos son concordantes con otros estudios algesiométricos (Pinaridi, 2001). En el caso de ambos AINEs como el paracetamol y diclofenaco, se explica su acción al inhibir en forma competitiva y reversible la actividad de COX-2 y en consecuencia la biosíntesis de PG y tromboxanos, mediadores del proceso inflamatorio. Estudios sugieren que el óxido nítrico participa en el proceso de nocicepción, la complejidad de los mecanismos que regulan la expresión de las diferentes óxido nítrico sintasas, la producción cuantitativa de NO producida por la enzima, y la célula donde se genera, así como también la diferente respuesta de la neuronas inhibitorias o excitatorias frente al NO, ha determinado que no se tenga bien definido cuál es el papel exacto de este gas en el dolor (Sousa, 2001). Asimismo, el diclofenaco activa receptores alfa 2 a nivel espinal y supraespinal y tiene interacción significativa con receptores opioides

a nivel espinal. Por otra parte, el diclofenaco, al inhibir la síntesis de prostaglandinas, disminuye la sensibilización de los nociceptores periféricos (Mobasher et al., 2014).

El efecto analgésico del tramadol fue muy superior al paracetamol y diclofenaco debido a que este actúa en la vía opioide típica, bloqueando la recaptación de noradrenalina, que ejercería su actividad agonista sobre los receptores alfa 2 adrenérgicos, produciendo una retroalimentación negativa (Stona, et al., 1997). Ya que el tramadol y su metabolit M1 producen antinocicepción al unirse a receptores opiodes μ y bloqueando la recaptación de monoaminas (noradrenalina y serotonina) a nivel del SNC , potenciando así la actividad de vías inhibitorias que modulan la transmisión nociceptiva en el asta posterior de la medula espinal (Raffa y cols., 1992).

El presente trabajo demuestra que la administración del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylon coca*, se evidencia que el extracto de coca a dosis de 50 mg/kg tiene menor efecto analgésico que el paracetamol a 200 mg/kg; el extracto de coca a dosis de 100 y 200 mg/kg tienen mayor efecto analgésico frente al diclofenaco 8 mg/kg peso, pero el extracto de coca a 200 mg/Kg tiene menor efecto analgésico que el tramadol 5 mg/kg. Además se debe tener en cuenta que el extracto de coca presenta actividad antinociceptiva dosisdependiente en el test de las contorsiones abdominales los que están relacionados con los probables diferentes mecanismos de acción, tiempos y velocidades de administración, absorción, distribución, etc. (Figura 1 -2).

El efecto observado por la administración del extracto de coca se le puede atribuir a los flavonoides, los que han mostrado actividad antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* (Tanaka, 1994). Así mismo a los triterpenoides pentacíclicos (Dewey, 1994).

V. CONCLUSIONES

Se logró obtener el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxyllum coca*

Se realizó la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxyllum coca*, permitiendo identificar los principales metabolitos presentes.

Se encontró que mayor efecto analgésico del extracto de coca se alcanzó con dosis de 200 mg/kg, además de ser dosis dependiente con un efecto máximo mayor que el diclofenaco 8 mg/kg pero menor que el tramadol 5 mg/kg.

Concluyéndose que el extracto etanólico de hojas de *Erythroxyllum coca* en condiciones experimentales presentan efecto analgésico en ratones.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios de seguridad, que permitan aplicar este producto natural en investigaciones de tipo clínico.

Se debe de realizar más estudios referentes al efecto analgésico utilizándose otros modelos experimentales.

Una limitación de la presente investigación fue que no se pudo delimitar el nivel y mecanismo de acción del extracto etanólico de la coca, eventos que recomendamos explorar en estudios posteriores

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aherne, S., O'Brien, N. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*. 18:75-81.
- Barnes, J. (2003). Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I. Regulation and quality. *Br J Clin Pharmacol*. 55:226-33.
- Brack, E. A. (1999). *Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú, Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas*. Lima.
- Burchard, R. (1978). Una nueva perspectiva sobre la masticación de la coca. *Instituto Indigenista Americano. América Indígena*. XXXVIII (4). Octubre-Diciembre.
- Cabieses, F. (1993). *Apuntes de medicina tradicional*. Lima: A&B S.A. 1993.
- Cabieses, M. F. (1992). *La coca ¿dilema trágico?*, Lima: ENACO.
- Chemical Abstracts Database (until 2002) on CD and printed version, American Chemical Society, USA.
- Collazos, C., Urquieta, R., Alvistur, E. (1975). Nutrición y coqueo. *Rev Viernes Médico*. 16(1):4.
- Corns, C.M. (2003). Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem*. 40:489– 507.

CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.

Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región.

Manual de técnicas de investigación; 1995. p.220

De la Fuente, G. (2004). Fisiopatología de la Inflamación. [en línea]

<<http://www2.udec.cl/~gdelaful/web/Inflama.pdf>>[consulta: 19 mayo 2009].

Dewey, W. L. (1994). Pain control with opioid analgesics. In: Brody TM, Lamer

J, Minnemann KP, Neu HC, editors. Human Pharmacology. 2nd ed. St Louis: Mosby. p. 373-88.

Duke, J., Aulik, D., Plowman, T. (1975). Nutritional value of coca. *Bot Mus Leafl*

Harv Univ. (24):113-9.

Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z. (1985).

Medicinal Plants in Therapy. Bull. Of the World Health Organization. 63(6):965 - 981.

García, L., Rojo, D., García, L.V., Hernández, M. (2002). Plantas con propiedades

antiinflamatorias. Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria de Girón" *Rev Cubana Invest Biomed*, 21(3):214-6.

Goicoechea, C., Martín, m. (2006). Mecanismos periféricos y centrales del

dolor.reumatol. Clin., 1: 5-9.

Kim, H. P., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. (2004). Antiinflammatory plant

flavonoids and cellular action mechanisms. *J Pharmacol Sci.* 96:229-45.

- Kim, H.K., Namgoong, S.Y., Kim, H.P. (2008). Anti-inflammatory activity of flavonoids: mouse ear edema inhibition. *Arch Pharmacol Res*, 16(1):18-24.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de*
- Machado, E. (1968). *El género Erythroxylum coca en el Perú*. Lima.
- Mitchell, B. (2009). Pain mechanisms and their implications for practice. [en línea] <<http://www.merckmedicus.com/pp/us/hcp/printpage.jsp>>[consulta: 20 diciembre 2008]
- Mitchell, R., Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N. (2007). Compendio de Robbins y Cotran: Patología estructural y funcional. 7ª. Edición. Madrid, España: Ed. Elsevier España S.A. 30-57.
- Mobasher, M. A., Sajedianfard, J., Jamshidzadeh, A., Naghdi, N., Namvaran, M. M. (2014). The effects of tramadol on norepinephrine and MHPG releasing in locus coeruleus in formalin test in rats: a brain stereotaxic study. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(6):419-25.
- Navarro, A. (1988). Prevalencia de caries dental por superficie en sujetos con el hábito de masticar hojas de coca, en el distrito de Palcamayo, Provincia de Tarma, Departamento de Junín. Tesis de Bachiller. Fac. Estomatología: Univ. Peruana Cayetano Heredia. Lima.
- Pelzer, L. E, Guardia, T., Juarez, A. O., Guerreiro, E. (1988). Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. 53: 421-424.

- Penny, M., Zavaleta, A., Lemay, M., Liria, M., Huaylinas, M., Alminger, M., et al. (2009). Can coca leaves contribute to improving the nutritional status of the Andean population? *Food Nutrit Bull.* 30(3):205-16. 16.
- Pinardi G, Sierralta, F; Miranda, H. (2001). Interaction between the Antinociceptive Effect of Ketoprofen and Adrenergic Modulatory Systems. *Inflammation.*4:235-239.
- Rousseaux, C.G., Schachter, H. (2003). Regulatory issues concerning the safety, efficacy and quality of herbal remedies. *Birth Defects Res Part B. Dev Reprod Toxicol.* 68:505–10.
- Raffa, R., friderichs, E., Reimann, W., Shank, R., Codd, E., Vaught, J. (1992) Opioid and monopiod components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an atypical opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther.* 260: 1-11.
- Raj, K., Sripal, M., Chauluvadi, M., Krishna, D. (2001). Bioflavoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology.* 33:2-16.
- Sousa AM, Prado WA. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. *Brain Research.* 897: 9-19, 2001.
- Sun, h., Fang w., Wang w. Y Hu C. (2006). Structure-activity relationships of oleanane- and ursane-type triterpenoids. *Botanical Studies* 47: 339-368.
- Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Hirose, Y., Wang, A., Mori, H., et al. (1994). Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis

by dietary curcumin and hesperidin: Comparison with the protective effect of β -carotene. *Cancer Res.* 54:4653-9.

Terran, M., Sandagorda, A. (1980). *Aspectos socioculturales del consumo de la coca. Cocaína 1980-actas del seminario interamericano sobre aspectos 90 médicos y sociológicos de la coca y la cocaína.* Lima: Editorial F R Jeri.

Villar, M., Villavicencio, O. (2001). *Manual de fitoterapia.* EsSalud. OPS. Lima. p.153-156.

Villaescusa, C. (2000) La adormidera. Una fuente de alcaloides de extraordinario interés. *AFT.* 4(4):252-9.

VIII. ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo 01. Datos obtenidos al evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* en ratones.

N°	Tratamientos	Contorsiones abdominales
1	SSF 5 mL/Kg	18
2	SSF 5 mL/Kg	17
3	SSF 5 mL/Kg	20
4	SSF 5 mL/Kg	25
5	SSF 5 mL/Kg	22
6	SSF 5 mL/Kg	20
7	Paracetamol 200 mg/Kg	14
8	Paracetamol 200 mg/Kg	17
9	Paracetamol 200 mg/Kg	19
10	Paracetamol 200 mg/Kg	21
11	Paracetamol 200 mg/Kg	18
12	Paracetamol 200 mg/Kg	20
13	Diclofenaco 8 mg/kg	13
14	Diclofenaco 8 mg/kg	19
15	Diclofenaco 8 mg/kg	16
16	Diclofenaco 8 mg/kg	12
17	Diclofenaco 8 mg/kg	11
18	Diclofenaco 8 mg/kg	14
19	Tramadol 5 mg/kg	4
20	Tramadol 5 mg/kg	7
21	Tramadol 5 mg/kg	6
22	Tramadol 5 mg/kg	4
23	Tramadol 5 mg/kg	5
24	Tramadol 5 mg/kg	7
25	Extracto 50 mg/kg	22
26	Extracto 50 mg/kg	16
27	Extracto 50 mg/kg	18
28	Extracto 50 mg/kg	19
29	Extracto 50 mg/kg	23
30	Extracto 50 mg/kg	19
31	Extracto 100 mg/kg	14
32	Extracto 100 mg/kg	16
33	Extracto 100 mg/kg	17
34	Extracto 100 mg/kg	15

35	Extracto 100 mg/kg	14
36	Extracto 100 mg/kg	13
37	Extracto 200 mg/kg	10
38	Extracto 200 mg/kg	12
39	Extracto 200 mg/kg	14
40	Extracto 200 mg/kg	9
41	Extracto 200 mg/kg	15
42	Extracto 200 mg/kg	14

Anexo 02. Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* en ratones.

Estadística descriptiva	SSF 5 mL/Kg	Paracetamol 200 mg/Kg	Diclofenaco 8 mg/kg	Tramadol 5 mg/kg	Extracto 50 mg/kg	Extracto 100 mg/kg	Extracto 200 mg/kg
Media	20.33	18.17	14.17	5.50	19.50	14.83	12.33
Error típico	1.17	1.01	1.19	0.56	1.06	0.60	0.99
Mediana	20.00	18.50	13.50	5.50	19.00	14.50	13.00
Moda	20.00	#N/A	#N/A	4.00	19.00	14.00	14.00
Desviación estándar	2.88	2.48	2.93	1.38	2.59	1.47	2.42
Varianza de la muestra	8.27	6.17	8.57	1.90	6.70	2.17	5.87
Curtosis	0.26	0.74	0.25	-2.30	-0.88	-0.86	-1.79
Coefficiente de asimetría	0.71	-0.87	0.90	0.00	0.21	0.42	-0.46
Rango	8.00	7.00	8.00	3.00	7.00	4.00	6.00
Mínimo	17.00	14.00	11.00	4.00	16.00	13.00	9.00
Máximo	25.00	21.00	19.00	7.00	23.00	17.00	15.00
Suma	122.00	109.00	85.00	33.00	117.00	89.00	74.00
Cuenta	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Mayor (1)	25.00	21.00	19.00	7.00	23.00	17.00	15.00
Menor(1)	17.00	14.00	11.00	4.00	16.00	13.00	9.00
Nivel de confianza (95.0%)	3.02	2.61	3.07	1.45	2.72	1.54	2.54

Anexo 03. Análisis de varianza (ANOVA) de los datos obtenidos al evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* en ratones

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	940.809524	6	156.801587	27.6941407	6.44262E-12	2.3717812
Dentro de los grupos	198.166667	35	5.66190476			
Total	1138.97619	41				