



PRIMERA
SECCIÓN

**Artículos
originales**



Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico de la asociación de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. en modelo murino

Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic effect of the association of extracts of *Xanthium spinosum* L. and *Urtica urens* L. in the murine model

GUTIERREZ DURÁN, MARÍA DEL PILAR¹
GONZÁLES DÁVALOS, EDUARDO^{1*}

FECHA DE RECEPCIÓN: 7 DE AGOSTO DE 2018

FECHA DE ACEPTACIÓN: 12 DE OCTUBRE DE 2018

Resumen

La elevada incidencia de los efectos adversos provocados por el uso crónico de antiinflamatorios, ha dirigido la búsqueda de terapias alternativas o coadyuvantes basadas en la utilización de plantas medicinales. En Bolivia las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. son empleadas tradicionalmente en procesos inflamatorios.

En este trabajo se investiga el efecto antiinflamatorio y analgésico de diferentes tipos de extractos: extracto acuoso, etanólico, diclorometánico, etéreo de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. y la asociación de los extractos acuosos y etanólicos de las mismas especies vegetales, en modelos murino. Los mayores efectos de inhibición de la inflamación a una dosis de 1,5 g/kg de peso corporal se registraron a las siete horas del proceso inflamatorio para los extractos acuoso (64,8%) y etanólico (68,7%) de *X. spinosum* L.; el porcentaje de inhibición para el

Abstract

The high incidence of adverse effects caused by the chronic use of anti-inflammatory drugs has led to the search for alternative therapies or coadjuvants based on the use of medicinal plants. In Bolivia, the plant species *Xanthium spinosum* L. and *Urtica urens* L. are traditionally used in inflammatory processes.

In this work the antiinflammatory and analgesic effect of different types of extracts is investigated: aqueous, ethanolic, dichloromethane, ethereal extract of the plant species *Xanthium spinosum* L. and *Urtica urens* L. and the association of aqueous and ethanolic extracts of the same plant species, in murine models. The highest effects of inhibition of inflammation at a dose of 1.5 g/kg of body weight were recorded seven hours after the inflammatory process for the aqueous (64.8%) and ethanolic (68.7%) extracts of *X. spinosum* L.; the percentage

¹ Área de Farmacología, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas "Luis Enrique Terrazas Siles". Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224. La Paz, Bolivia.

* Correspondencia: eduardo.gonzales@gmail.com

extracto acuoso y etanólico de *U. urens* L. fue de 57% y 51,5% respectivamente. La inhibición de la algia fue observada en los extractos diclorometánico y etanólico de ambas especies, llegando a un máximo de inhibición de 72,8% con el extracto etanólico de *U. urens* L.

La evaluación de la asociación de extractos acuosos de ambas especies, a una dosis de 0,75 g/kg de peso corporal de cada extracto, mostro un efecto antiinflamatorio con un porcentaje de inhibición de la inflamación de 68,95% y un porcentaje de inhibición de la algia de 54,8%; en tanto que la asociación de los extractos etanólicos de estas especies mostro sólo efecto antiinflamatorio.

of inhibition for the aqueous and ethanolic extract of *U. urens* L. was 57% and 51.5% respectively. The inhibition of algia was observed in the dichloromethane and ethanolic extracts of both species, reaching a maximum of 72.8% inhibition with the ethanolic extract of *U. urens* L.

The evaluation of the association of aqueous extracts of both species, at a dose of 0.75 g/kg of body weight of each extract, showed an anti-inflammatory effect with a percentage of inhibition of inflammation of 68.95% and a percentage of inhibition of algia of 54.8%; whereas the association of the ethanolic extracts of these species showed only anti-inflammatory effect.

PALABRAS CLAVE

Xanthium spinosum L., *Urtica urens* L. actividad antiinflamatoria

KEY WORDS

Xanthium spinosum L., *Urtica urens* L. antiinflammatory activity

INTRODUCCIÓN

El número de nuevos principios activos aprobados en la industria farmacéutica y su relación con los principales grupos de enfermedades da a conocer que la mayoría de ellos están relacionados con las enfermedades infecciosas, cáncer, antihipertensivos y enfermedades inflamatorias (Emea, 2017). Para el tratamiento de procesos inflamatorios y el control del dolor agudo y crónico, el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) está muy extendido en todo el mundo, donde aproximadamente treinta millones de personas los consumen a diario alcanzando más de cien millones de prescripciones cada año (Samuelsen y col., 2015; Thomas y col., 2004; Villa y col., 1999).

Aunque la prevalencia de efectos adversos por el consumo de AINES varía ampliamente, al menos de 10 a 20 % de los pacientes presentan dispepsia durante su consumo; de 15 a 25% de los pacientes que consumen AINES desarrollan úlcera gastroduodenal y 1,5% de los pacientes con artritis reumatoide que toman AINES, durante un año, presentan complicaciones gastrointestinales graves (Soriano y col., 2000). La investigación de nuevas alternativas de tratamientos en base a plantas medicinales, que presenten menores efectos adversos en la salud, toma gran importancia en el tratamiento de los procesos inflamatorios (Jail y col., 2003; Okoli y col., 2005; Laupattarakasen y col., 2006).

El empleo de las plantas medicinales permite en muchos casos mejorar el proceso patológico y en otros resolverlo sin llegar a producir efectos adversos (Cañavate, 1995). Actualmente los medicamentos antiinflamatorios de origen vegetal constituyen un segmento importante entre los productos far-

macéuticos, siendo en los países más desarrollados donde se observa un mayor incremento de su uso, respecto de los medicamentos farmacéuticos convencionales.

La idea de asociar dos o más extractos de plantas en una sola combinación más eficaz, se remonta a muchos siglos atrás. Existen numerosos ejemplos de formulaciones complejas ampliamente utilizadas en la medicina tradicional en todo el mundo. El concepto de sinergia se basa en la suposición de que combina dos sustancias, que actúan sobre diferentes objetivos moleculares en las células y pueden dar como resultado respuestas aditivas o supra aditivas en células u organismos, debido a las interacciones sinérgicas de objetivos moleculares dentro de una red molecular (Wagner, 2006; Efferth y Koch, 2011).

En este trabajo se investiga la actividad farmacológica de las especies vegetales *Xanthium spinosum* L. (Amor seco) y *Urtica urens* L. (Itapallo) que son empleadas en la medicina tradicional como antiinflamatorias, así como sus asociaciones de acuerdo a la información proporcionada por médicos tradicionales y hierberos que expenden estas plantas en la calle Sagárnaga de la ciudad de La Paz, con el objetivo validar su uso y brindar alternativas para la atención en salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

La especie vegetal *X. spinosum* L. fue recolectada del municipio de Taraco, provincia Ingavi del Departamento de La Paz, se halla ubicado entre las coordenadas 16°26'08" latitud sur y 68°56'43" longitud oeste, limita al Norte y al Oeste con el Lago Titicaca y la República de Perú; al Sur con el municipio de Guaqui y al Este con el municipio de Tiahuanaku.

La especie vegetal *U. urens* L. fue recolectada en el departamento de La Paz, provincia Ingavi, sexta sección Jesús de Machaca, cantón Chama a 110 km de la ciudad de La Paz ubicada a 68° 50'00" longitud Oeste, 16°45'00" latitud Sur.

La autenticación de las dos especie vegetales, *U. urens* L. (Voucher N°1) y *X. spinosum* L. (Voucher N°2), se realizó en el Herbario Nacional de Bolivia (LPB) a cargo del botánico Javier Quisbert.

Preparación de los extractos: etéreo, diclorometánico y etanólico de ambas plantas

Los extractos orgánicos fueron obtenidos por percolación en frío mediante el procedimiento de polaridad creciente, por extracción sucesiva con éter de petróleo, diclorometano y etanol. Se emplearon 300g de material vegetal seco y pulverizado de cada especie. El total de los líquidos extractivos se con-

centraron en un rotaevaporador (Heidolf Labarota 4000 digital) a presión reducida y temperatura controlada hasta la obtención de un extracto de consistencia pastosa que se dejó secar a temperatura ambiente. Para la obtención de los extractos acuosos, se procedió a verter agua destilada sobre el recipiente que contiene la planta pulverizada libre del último solvente (etanol), se tapó y se mantuvo así por un periodo de dos horas, posteriormente se filtró y se sometió a un proceso de liofilización en el equipo Christ ALPHA2-4 LO plus.

Animales de experimentación

Se utilizaron ratones machos *Swiss* albinos con un peso de 22 ± 2 g proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la UMSA mantenidos *ad libitum* hasta el inicio de la experiencia.

Evaluación de la actividad Antiinflamatoria

Para la determinación de la actividad antiinflamatoria de los diferentes extractos se seleccionó el modelo edema plantar agudo inducido por carragenina en ratones (Almasirad y col., 2014; Winter y col., 1962), este modelo consiste en la administración subcutánea de una pseudodisolución de γ -carragenina a nivel de la aponeurosis plantar del ratón, los animales fueron separados en lotes de seis. Los extractos etéreo, diclorometánico, etanólico y acuoso, fueron administrados vía oral previamente disueltos en una solución de *Tween* 1%, etanol 1% y agua, a una dosis de 1,5g de extracto/kg de p. c.; la indometacina fue administrada vía oral a una dosis de 10mg/kg de p. c.; la dexametasona fue administrada vía intraperitoneal a una dosis de 4mg/kg de p.c.

Inicialmente se mide el espesor plantar basal de la pata trasera izquierda de todos los animales mediante un Vernier (Metrology Fowler). A continuación se administró por vía oral el vehículo, la indometacina y la solución de extracto mediante una cánula a cada lote de experimentación, la dexametasona se administró 30 minutos antes de la inoculación de la carragenina. Transcurrida una hora de la administración del vehículo, la indometacina y la solución de extracto, se inocula la carragenina (0,05 ml al 1%), mediante la inyección subcutánea en la aponeurosis plantar de la pata izquierda de todos los animales.

La medida de la evolución del edema se realizó a las 3, 5, 7 horas después de la administración de la carragenina mediante la medición del espesor de la pata, luego se determinó el incremento del espesor de la pata para cada ratón.

Evaluación de la actividad analgésica

Para la determinación de la actividad analgésica se seleccionó el modelo de inducción de contorsiones con ácido acético en ratones (Nwafor y col., 2010; Collier y col., 1968). Este modelo consiste en la administración intrape-

ritoneal de ácido acético que produce un dolor de tipo visceral el cual se midió contando el número de contorciones que presentó el animal cada 5 minutos por un periodo de 30 minutos, post inyección del ácido acético. Los animales fueron separados en lotes de seis, los extractos se administraron por vía oral a una dosis de 1,5g de extracto/kg de p.c., la indometacina se administró vía oral a una dosis de 10mg/kg. Como agente algésico se empleó una solución acuosa de ácido acético; al grupo control se le administró solución salina fisiológica (NaCl 0,9 %).

Una hora después, se administró la disolución de ácido acético 0.2 ml (1%) por vía intraperitoneal a todos los lotes, inmediatamente después de la administración del agente algésico, cada animal se aisló en una caja individual para observar el número de contorsiones o estiramientos durante 30 minutos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron en porcentajes, promedios y errores de la media, se consideró como significativo un $p < 0.05$. Se utilizó la prueba de Tukey, Anova, t de student, el análisis se realizó usando el programa computacional estadístico Graph Pad Prism Versión 6.

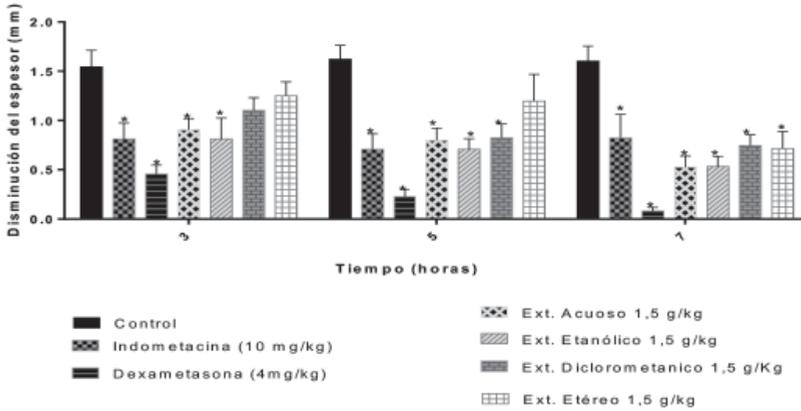
RESULTADOS

Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio se emplearon 4 tipos de extractos a una dosis de 1,5 g/kg de p.c., y la asociación de extractos, uno acuoso y otro etanólico a una dosis de 0,75 g/kg de p.c.

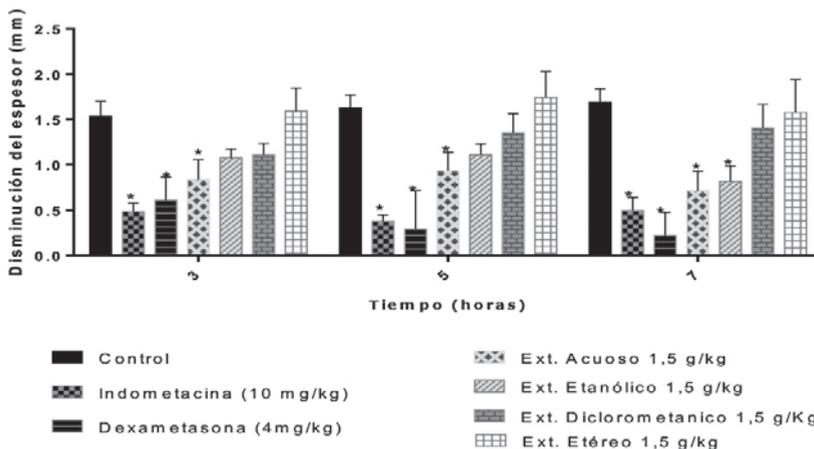
Los resultados de la disminución de la inflamación en la pata de los animales de experimentación con los extractos de *X. spinosum* L. se expresan en la figura 1, en el grupo tratado con el control positivo indometacina (utilizado como fármaco de referencia) se observó una inhibición de la inflamación máxima de 60,7% a las siete horas después de haber administrado el agente irritante, el control positivo dexametasona, mostro una inhibición de la inflamación en un 95,2%, siendo estas estadísticamente significativas $p < 0,05$. Asimismo, los extractos acuoso, etanólico y diclometanico de *X. spinosum* L. mostraron un efecto antiinflamatorio de moderado a alto (64,8%, 66,7%, 53%, respectivamente) con una tendencia ascendente al cabo de siete horas. El extracto etéreo, a diferencia de los demás extractos mostro el efecto inhibitorio de la inflamación sólo al cabo de las siete horas, con 49,5%.

Figura 1. Disminución de la inflamación mediante la medida del espesor en mm de las patas de los ratones para los diferentes extractos de *X. spinosum* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.
*** Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$).**



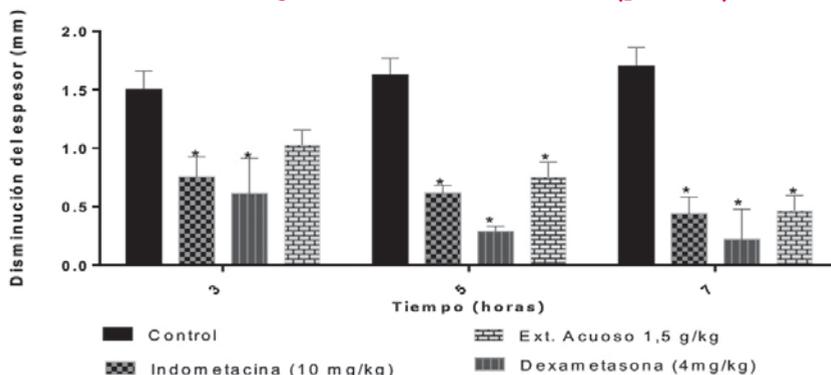
La disminución de la inflamación con de los extractos de *U. urens* L. se expresan en la figura 2. Los controles positivos empleados presentaron valores significativos de actividad antiinflamatoria. Los extractos étanólico y acuoso presentaron un efecto inhibitorio de la inflamación estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a las siete horas con porcentajes de inflamación de 57,4% y 51,1% respectivamente. Por otra parte, si bien el extracto diclorometánico presentó cierto efecto inhibitorio de la inflamación, no alcanzó valores estadísticamente significativos. Finalmente, el extracto etéreo presentó un efecto inflamatorio, agravando la condición del proceso.

Figura 2. Disminución de la inflamación mediante la medida del espesor en mm de las patas de los ratones para los diferentes extractos de *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.
*** Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$).**



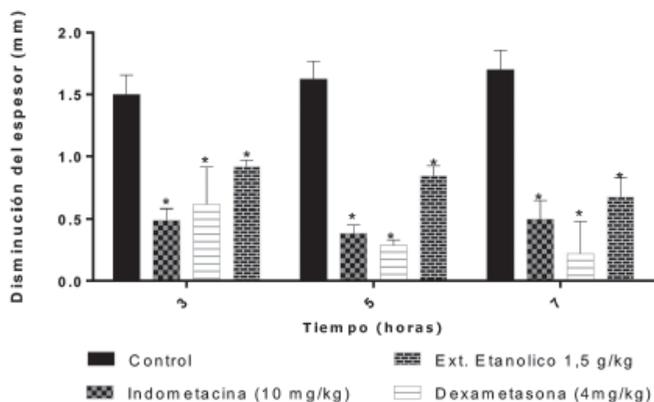
En la figura 3 se observan los resultados del efecto de la asociación de los extractos acuosos a una dosis de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kg de p. c., a las tres horas el efecto antiinflamatorio fue leve, en tanto, que tras las cinco y siete horas de haberse administrado el agente irritante, el efecto fue significativo ($p < 0,05$), el extracto presentó un de porcentaje de inhibición de 50,8% a las 5 horas, y 68,9% a las 7 horas.

Figura 3. Disminución de la inflamación mediante la medida del espesor en mm de las patas de los ratones evaluadas con la asociación de los extractos acuosos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.
*Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)



Para evaluar el efecto antiinflamatorio de la asociación de los extractos etanólicos se administró una dosis de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kg de p.c. En la figura 4, se puede observar que la asociación de los extractos tuvo un efecto antiinflamatorio significativo ($p < 0,05$) a las tres, cinco y siete horas del proceso inflamatorio, siendo mayor el efecto a las cinco y siete horas con un porcentaje de inhibición de 48,5% y 58,6% respectivamente.

Figura 4. Disminución de la inflamación mediante la medida del espesor en mm de las patas de los ratones evaluadas con la asociación de los extractos etanólicos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. a las 3, 5 y 7 horas del proceso inflamatorio.
*Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)

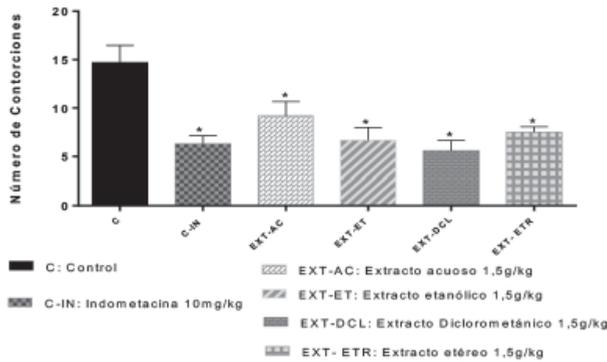


Evaluación de la actividad analgésica de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L.

Los medicamentos antiinflamatorios presentan también efectos analgésicos, razón por la que los estudios de actividad antiinflamatoria se complementan con estudios de actividad analgésica.

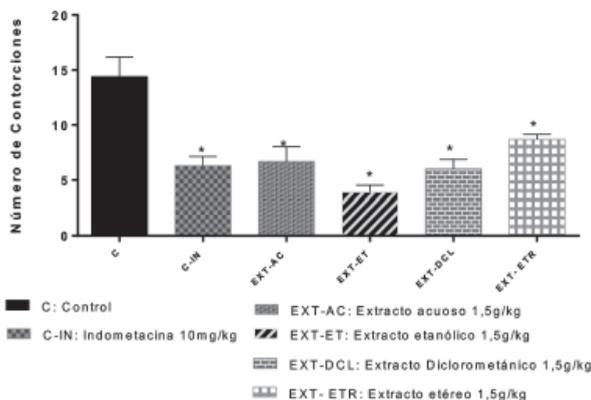
De acuerdo con los resultados de la figura 5, la administración de todos los extractos de *X. spinosum* L. registraron un efecto analgésico de moderado a alto, siendo el extracto diclorometánico el que mostró una mayor inhibición con un 61%, seguido del extracto etanólico con 53.5% de inhibición de las contorsiones abdominales.

Figura 5. Inhibición de las contorsiones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de *X. spinosum* L.
*Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)



Los resultados del efecto analgésico de los distintos extractos de *U. urens* L. (figura 6) fue significativo frente al control ($p < 0,05$), el extracto etanólico inhibió la producción de contorsiones en un 72,8%, seguido del extracto diclorometánico con un 58,3% de inhibición.

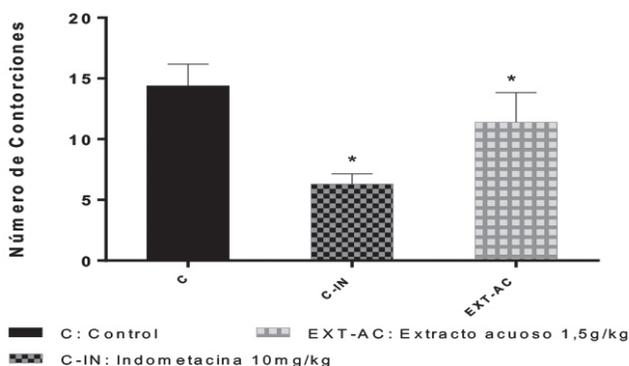
Figura 6. Inhibición de las contorsiones inducidas por ácido acético en los ratones para los extractos de *U. urens* L.
*Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)



Para estudiar el efecto analgésico de la asociación de los extractos acuosos se administró una dosis de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kg de p.c. En la figura 7, se puede apreciar que la asociación de extractos presenta un efecto analgésico significativo ($p < 0,05$) con un porcentaje de inhibición de 54,8%.

Figura 7. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en ratones para La asociación de extractos acuosos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.

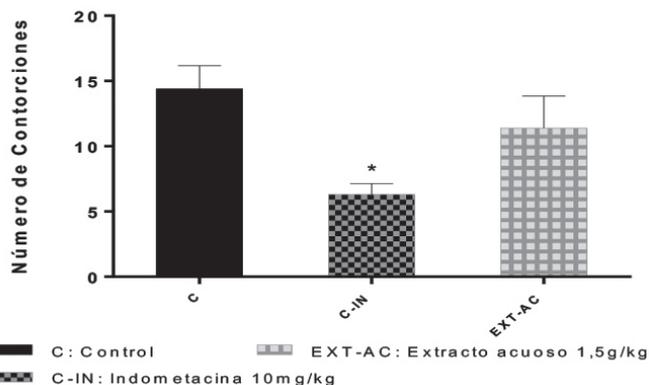
***Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)**



El efecto analgésico de la asociación de los extractos etanólicos se realizó administrando a cada ratón una dosis de 0,75 g de *X. spinosum* L. y 0,75 g de *U. urens* L. por kg de p.c. En la figura 8, se observa que la asociación de los extractos presenta un efecto analgésico bajo y no significativo (20,8%) respecto de los extractos administrados individualmente (53,5% para *X. spinosum* L. y 72,8% para *U. urens* L.).

Figura 8. Inhibición de las contorciones inducidas por ácido acético en los ratones para la asociación de extractos etanólicos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L.

***Diferencia significativa frente al control ($p < 0,05$)**



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El efecto antiinflamatorio de los extractos se evaluó a través del edema inducido por carragenina, la formación de edema a nivel de la aponeurosis plantar del ratón provoca una reacción de carácter inflamatorio agudo, no específico, que resulta de la acción secuencial de varios mediadores, como la histamina, la serotonina, la bradiquinina y las prostaglandinas (Di Rosa y col., 1971; Heller y col., 1998).

En ratones, la inyección intraplantar de carragenina produce una respuesta edematogénica, que posee un perfil bifásico, con pico a las 6 y 72 horas (Levy, 1969; Sugishita y col., 1981; Henriques y col., 1987; Ianaro y col., 1994; Posadas y col., 2004). El edema de pata inducido por carragenina en el ratón, se asocia también con los cambios nociceptivos en la pata y la migración de células inflamatorias al sitio de la inyección (Posadas y col., 2004; Cunha y col., 2005). Recientemente, se ha demostrado que la segunda fase de la respuesta inflamatoria después de la inyección de carragenina en la pata de los ratones se asocia con la producción de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), una elevada producción de prostaglandinas (por la acción de las ciclooxigenasas 1 y 2, COX-1 y COX-2), radicales libres oxigenados (NO derivados de eNOS y iNOS) e infiltración de neutrófilos (Posadas y col., 2004; Bucci y col., 2005; Morris, 2003). De acuerdo con la participación de estos mediadores de la inflamación, se observa tres fases diferenciadas en el edema: Fase primaria: (1ª hora) debida principalmente al efecto traumático de la inyección y liberación simultánea de histamina y serotonina que ejercen un efecto máximo. Fase secundaria: (1 a 2,5 horas) se debe en gran parte a la liberación de cininas. Fase tardía: (2,5 a 6 horas) caracterizada principalmente por la liberación de prostaglandinas, NO (óxido nítrico), radicales superóxido, posiblemente neuropéptidos y por una máxima migración leucocitaria de células polimorfonucleares (70%) y mononucleares (30%) (García y col., 2000).

Estudios realizados *in vitro* demostraron que el extracto acuoso del género *Xanthium* disminuye el nivel de NO y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α asociados con la inflamación (Ming y col., 2011; In-Tae y col., 2005).

Según los resultados obtenidos el extracto etanólico de *X. spinosum* y el extracto acuoso de *U. urens* fueron los más activos frente a la inflamación provocada por la carragenina en fase tardía lo que indicaría que el efecto observado puede deberse a la capacidad de los extractos para inhibir, la liberación y/o actividad de las prostaglandinas o inhibiendo la formación de radicales libres, provocando así una disminución de la inflamación, por la acción de flavonoides y/u otros compuestos fenólicos.

Se ha reportado que el ácido acético es un promotor de hiperalgesia, por causar la liberación de sustancias endógenas como las prostaglandinas, leucotrienos, 5-HT, histamina, cininas, H⁺, K⁺ que han sido implicadas en la medición de la percepción del dolor (Amico y col., 1984; Forth y col., 1986; Rang y col., 1999).

Los extractos con mayor actividad analgésica fueron el extracto diclorometánico y etanólico de las dos especies vegetales. La inhibición significativa del número de contorciones en los ratones ($p < 0,05$) podría deberse a la acción de los flavonoides de los extractos administrados, que actuarían sobre receptores y/o a su acción sobre los nociceptores aferentes mediante la reducción de la síntesis de prostaglandinas a nivel periférico relacionado con el sistema de prostanoïdes.

Por otra parte, los estudios preliminares del efecto antiinflamatorio de extractos acuosos y etanólicos empleando una dosis menor de 0,75 g/kg de p.c. por extracto no mostró efecto significativo, sin embargo el empleo de la asociación de extractos (dosis de 0,75 g/kg de *X. spinosum* y 0,75 g/kg de *U. urens*), induciría una probable actuación sinérgica antiinflamatoria y analgésica hasta alcanzar valores significativos, a excepción de la asociación de extractos etanólicos en la evaluación analgésica de estos extractos.

Los mecanismos de acción exactos que producen los efectos de sinergia son desconocidos, se podría explicar por una acción múltiple de los compuestos a nivel molecular, una mejor absorción o un cambio farmacocinético. La combinación de estos extractos podría tener éxito activando diferentes mecanismos que actúen sobre la inflamación.

En este estudio se ha demostrado que los extractos acuoso y etanólico que resultan de la asociación o combinación de los extractos individuales de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. desempeñan un papel activo en la actividad antiinflamatoria y analgésica probablemente inhibiendo la liberación de prostaglandinas, NO, y/o radicales superóxido. La administración conjunta de ambos extractos acuosos permitió una eficacia terapéutica mayor a menor dosis ya que aumento el porcentaje de actividad antiinflamatoria y analgésica, mientras que la asociación de extractos etanólicos produjo un efecto antiinflamatorio similar a la administración de los extractos individuales a menor dosis.

CONCLUSIONES

Los extractos acuoso y etanólico de *X. spinosum* L. presentaron una inhibición máxima de la inflamación de 64,8% y 66,7% respectivamente. El extracto acuoso de *U. urens* L. presentó una inhibición de 57,4% y su extracto etanólico un 51,1% de inhibición. Estos extractos poseen un efecto antiinflamatorio y analgésico similar al de la indometacina.

La administración en ratones de una asociación de los extractos acuosos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. muestra un significativo efecto antiinflamatorio y analgésico, con una inhibición de la inflamación de 68,9% y una inhibición de la algesia de 54,8%, en tanto que la asociación de los extractos etanólicos de *X. spinosum* L. y *U. urens* L. presenta sólo efecto antiinflamatorio, con una inhibición de la inflamación de 58,6%.

Los resultados obtenidos en los ensayos antiinflamatorios y analgésicos permitirían validar la utilización de las especies vegetales *X. spinosum* L. y *U. urens* L. como medicina tradicional para el tratamiento de procesos inflamatorios y analgésicos y, la cual podría potenciarse con el uso ambas especies.

AGRADECIMIENTOS

A la Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo (AECID) D/031518/10, por haber auspiciado la Maestría en Fitofarmacia, dentro de la cual se realizó este trabajo de investigación.

A Paulina Bermejo, María Dolores Veiga y Roberto Ruíz por su colaboración en el trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almasirad A, Mousavi Z, Tajik M, Assarzadeh MJ, Shafiee A (2014). Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of new methyl-imidazolyl-1, 3, 4-oxadiazoles and 1, 2, 4-triazoles. *DARU J Pharm Sci*, 22:1-8.
- Amico-roxas M, Caruso A, Trombadore S, Scifo R, Scapagini U (1984). Gangliosides antinociceptive effects in rodents. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther*, 272: 103-117.
- Bucci M, Roviezzo F, Posadas I, Yu J, Parente L, Sessa W, Ignarro L, Cirino G (2005). Endothelial nitric oxide synthase activation is critical for vascular leakage during acute inflammation in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 904-908.
- Cañavate J (1995). Fitoterapia de la inflamación. *Natura Medicatex*, 37-38:80-85.
- Collier H, Dinnin L, Johnson C, Schneider C (1968). The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother*, 32: 295-310.
- Cunha T, Verri J, Silva J, Poole S, Cunha F, Ferreira S (2005). A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102:1755-1760.
- Di Rosa M, Giroud J, Willoughby D (1971). Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *Journal of Pathology*, 104: 15-29.
- EMA Agencia Europea del Medicamento, 2017.
- Efferth, T., Koch, E. (2011). Complex interactions between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy. *Curr. Drug Targ.* 12, 122-132.
- Forth W, Peter K. (1986). The relief of pain. *Hoechst medication Up-Date*. Hoechst, Munich, 6-107.
- García A, Morales R, Porta M, Rubio E, Ochoa J (2000). Superoxide dismutase and Naproxen® in the very late phase of carrageenan induced edema in rats. *La Revista de Investigación Clínica*, 52 (2): 156-159.
- Heller A, Koch T, Schmeck J, Acker VK (1998). Lipid mediators in inflammatory disorders. *Drugs*, 55:487-496.
- Henriques M, Silva P, Martins M, Flores C, Cunha F, Assreuy-Filho J, Cordeiro R (1987). Mouse paw edema. A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res*, 20: 243-249.
- Ianaro A, O'Donnell C, Di Rosa M, Liew F (1994). A nitric oxide synthase inhibitor reduces inflammation, downregulates inflammatory cytokines and enhances interleukin-10 production in carrageenin-induced oedema in mice. *Immunology*, 82, 370-375.
- In-Tae KIM, Young-Mi Park, Jong-Heon Won, Hyun-Jung, Hee-Juhn Park, Jong-Won Choi, Kyung-Tae Lee (2005). Methanol Extract of *Xanthium strumarium* L. possesses Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities. *Biol. Pharm. Bull*, 28(1): 94-100.
- Jail S, Bozhanka M, Rilka T, Maya (2003). *In vitro* Anti-inflammatory Effect of *Carthamus lanatus* L. *Z. Naturforsch*, (58c): 830-832.
- Laupattarakasem P, Wangsrimongkol T, Surarit R, Hahnvajanawong C (2006). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3): 349-354.
- Levy L. (1969). Carrageenan paw edema in the mouse. *Life Sci.*, 8, 601-606.
- Ming-Hsing H, Bor-Sen W, Chuan-Sung C, Sakae A, Wen-Tsong H, Shyh-Shyun H, Pei-Hsin S, Guan-Jhong H (2011). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2): 545-552.
- Morris CJ (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol Biol*, 225:115-12.
- Nwafor PA, Nwajiobi N, Uko IE, Obot JS. (2010). Analgesic and anti-inflammatory activities of an ethanol extract of *Smilax krausiana* leaf in mice. *Afr J Biomed Res* 13:141-8.
- Okoli C, Akah P, Ezugworie U (2005). Anti-inflammatory activity of extracts of root bark of *Securidaca longipedunculata* FRES (Polygalaceae) *Afr. J. Trad. CAM*, 2(3):54-63.
- Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, Cirino G. (2004). Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *Br. J. Pharmacol*, 142, 331-338.
- Rang H, Dale M, Ritter J (1999). *Pharmacology*. Churchill Livingstone, 5th ed.
- Samuelsen (2015). Analgesic use in a Norwegian general po-pulation: change over time and high-risk use - the tromsø Study. *BMC Pharmacology and toxicology*, 16 doi:10.1186/s40360-015-0016.
- Soriano J, Bess A, Sans M, Elizalde J. (2000). *Toxicología gastrointestinal por AINES*. 8ª ed. España: Medicine.
- Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. (1981). Antiinflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J. Pharmacobiodyn.* 4, 565-575.
- Thomas E, Peat G, Harris L, Wilkie R, Croft-PR (2004). The prevalence of pain and pain interference in a general population of older adult cross-sectional findings from the North Staffordshire Osteoarthritis. Project (NorSTOP), 110:361-368.
- Villa L, Sanchez A, Perez A, Alabram F. (1999). *Uso Clínicos de los AINES*. 1ª ed. España: Rothographiks.
- Wagner H. (2006). Multitarget therapy-the future of treatment for more than just functional dyspepsia. *Phytomedicine*. 5, 122 - 129.
- Winter CA, Risley EA, Nuss GW (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Exp Biol Med*, 111:544-547.