

Evaluación de la actividad analgésica central de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi)

Evaluation of the central analgesic activity of the leaves of *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi)

Dra. Angélica M. León Fernández, Dra. Lourdes L. Tupia Céspedes, Dra. Yessica Turriate Montaldo, Dr. Julio E. Maraví Rengifo, Dr. Alejandro J. Barrientos Herrera, Dr. Orlando J. Urbano Farje, Dr. Alberto A. Salazar Granara

Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología, Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina. Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú.

RESUMEN

Introducción: *Maytenus macrocarpa* Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi), es una planta medicinal peruana, a la cual se le atribuyen efectos: antidisentérico, antidiarreico, analgésico, antiinflamatorio, entre otros.

Objetivo: explorar la actividad analgésica central de las hojas de *M. macrocarpa*, en ratones, mediante el modelo de retirada de la cola.

Métodos: a 50 ratones albinos (25 g promedio), divididos en 5 grupos, se les administró por la vía oral lo siguiente: *M. macrocarpa* 1 000 y 1 500 mg/kg, Tramadol 10 mg/kg, agua destilada (placebo) 0,1 mL/10 g, y un grupo control. Se evaluó el dolor en el roedor, midiendo el promedio del período de latencia, después de 6 mediciones de intervalos de 30 minutos. Asimismo, se determinó el porcentaje del efecto máximo posible (% MPE, por sus siglas en inglés).

Resultados: chuchuhuasi 1 000 mg/kg, presentó un basal de 2,781 segundos, frente a 4,135 segundos a los 120 minutos. Chuchuhuasi 1 500 mg/kg, presentó un basal de 2,467 segundos, frente a 4,385 segundos a los 180 minutos; frente al control presentaron un valor $p > 0,05$. Tramadol tuvo un basal de 2,030 segundos, frente a 5,173 segundos, a los 30 minutos; frente al control presentó un valor $p < 0,05$. El grupo placebo fue no significativo. El % MPE fue de 19 % para chuchuhuasi 1 000 mg/kg, 14 % para chuchuhuasi 1 500 mg/kg, y 37 % para Tramadol.

Conclusión: el efecto analgésico central de las hojas de *M. macrocarpa* en el modelo de retirada de la cola fue no significativo, el máximo % MPE fue de 19 %, con chuchuhuasi a 1 000 mg/kg.

Palabras clave: *Maytenus macrocarpa*, hojas, dolor, actividad analgésica, retirada de la cola, Tramadol.

ABSTRACT

Introduction: *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi) is a Peruvian medicinal plant which has been attributed antidiarrheal, antidiarrheal, analgesic and anti-inflammatory effects, among others.

Objective: explore the central analgesic activity of *M. macrocarpa* leaves in mice using the tail-flick model.

Methods: fifty albino mice (25 g average weight) were divided into 5 groups and administered the following substances by oral route: *M. macrocarpa* 1 000 and 1 500 mg/kg, Tramadol 10 mg/kg, distilled water (placebo) 0.1 mL/10 g, and a control group. Pain was evaluated by estimating the average latency period after taking 6 measurements at 30 minute intervals. Percent maximum possible effect (% MPE) was also determined.

Results: baseline time for chuchuhuasi 1 000 mg/kg was 2.781 seconds vs. 4.135 seconds at 120 minutes. Baseline time for chuchuhuasi 1 500 mg/kg was 2.467 seconds vs. 4.385 seconds at 180 minutes; p value vs. control was $p > 0.05$. Baseline time for Tramadol was 2.030 seconds vs. 5.173 seconds at 30 minutes; p value vs. control was $p > 0.05$. The placebo group was not significant. % MPE was 19 % for chuchuhuasi 1 000 mg/kg, 14 % for chuchuhuasi 1 500 mg/kg and 37 % for Tramadol.

Conclusion: the central analgesic effect of *M. macrocarpa* leaves on the tail-flick model was not significant. Percent maximum possible effect was 19 % with chuchuhuasi 1 000 mg/kg.

Key words: *Maytenus macrocarpa*, leaves, pain, analgesic activity, tail flick, Tramadol.

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país rico en biodiversidad, se encuentra dentro de los cinco primeros países mega-diversos del planeta, cuenta con el 10 % de las especies de la flora mundial.^{1,2} Asimismo, ocho de cada 10 personas en países en desarrollo utilizan plantas medicinales,³ situación que es una realidad en la población peruana,⁴ así por ejemplo, existe una exposición al *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi), la cual pertenece a la familia de las Celastraceae, y al género *Maytenus*; sin embargo, se desconocen, aspectos como una dosificación segura, mecanismos de acción y efectos adversos.

Este problema debe ser atendido de manera sistemática, empezando por descubrir y/o corroborar, los efectos de las diferentes plantas utilizadas en la medicina

tradicional. Por otra parte, actualmente se observa un aumento en la demanda de *M. macrocarpa* (chuchuhuasi), sobre todo a nivel de exportación,^{5,6} asimismo, es tan fácil la forma de adquisición del chuchuhuasi, que inclusive, es posible obtenerlo por medios digitales.⁷

Por conocimiento popular, a *M. macrocarpa* (chuchuhuasi), se le atribuyen distintas propiedades, tales como analgésica, antiinflamatoria, anti-disentérica, afrodisíaca, hemostática, entre otras.⁸ En el presente estudio el foco de interés es la arrojada a la propiedad analgésica.

Estudios previos del género *Maytenus*, muestran propiedades analgésicas y antiinflamatorias,⁹⁻¹² sin embargo, hasta la actualidad no hay estudios publicados que evalúen este mismo efecto en *M. macrocarpa*. Por otra parte, estudios de la especie *M. krukovii*, sugieren una acción antinociceptiva de la planta, mediada por la vía opioidérgica.¹⁴

Estos antecedentes, conllevan a proponer la posible actividad del *M. macrocarpa* sobre la nocicepción, en tal sentido, para evaluar este efecto, existen métodos como la prueba de retirada de la cola (Tail Flick Test); esta prueba evalúa el dolor mediante la medición de la sensibilidad calor/dolor, sin provocar daño de los tejidos expuestos a estos estímulos,¹⁵⁻¹⁷ de esta forma, se evita la interferencia de la inflamación,¹⁸ y se delimita la acción nociceptiva central.^{19,20}

Por lo antes expuesto, se observa un contexto actual de divergencia entre el uso comercial y tradicional del chuchuhuasi,^{5,22} asimismo, no existen suficientes estudios sistematizados que permitan recomendar un consumo racional de esta planta;^{23,24} por lo tanto, este estudio se centró en la exploración de la actividad analgésica central de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) en ratones, en el modelo de dolor de retirada de la cola (Tail Flick Test).

MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio experimental, realizado en el Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología (CIMTFAR), de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres (FMH-USMP), en Lima-Perú.

Muestra Vegetal

Se utilizó hojas de *M. macrocarpa*, estas se colectaron en Ucayali (Pucallpa), de acuerdo con los criterios del método de Cerrate, E.:²⁵

1. Colecta de la parte aérea de la planta a las 08:00 horas.
2. Colocar la muestra en una prensa de madera.
3. Lavar la muestra vegetal.

La autenticación e identificación taxonómica de la planta, se realizó mediante examen de macroscopía y microscopía. El resultado fue corroborado acorde a los

especímenes del herbario de la USM (herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos) y del herbario de la MO (herbario del Jardín Botánico de Missouri).

Finalmente, se clasificó el género y la especie como *Maytenus macrocarpa*, por referencias de la flora peruana y de la flora sudamericana, labor que fue realizada por el especialista en botánica, Dra. Berta Loja Herrera, N° C.B.P. 3853.²⁶⁻³⁰

Animales de laboratorio

Se utilizaron 50 ratones albinos machos (*Mus musculus L.*), cuyos pesos oscilaron entre 25 a 30 gramos, procedentes del Instituto Nacional de Salud del Perú. Los roedores fueron acondicionados en el Bioterio de la FMH-USMP, manteniendo las siguientes condiciones de la sala de reposo: temperatura de 22 °C (+/-3), humedad relativa entre rangos de 30 a 70 %, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, y niveles de ruido menores a 70 db. Se proporcionó alimento balanceado para roedor y agua *ad libitum*, y se restringió el alimento 12 horas previas a la experimentación.

Muestra química

Tramadol en ampollas de 50 mg/mL, lote 080861 con registro sanitario N° E-17534 y con fecha de vencimiento de agosto del 2011; agua destilada en ampollas de 5 mL, del lote 080401 con registro sanitario N° E-1190-6 y con fecha de vencimiento de abril de 2013.

Preparación del extracto etanólico

Las hojas del *M. macrocarpa* se secaron y trituraron en un molino manual, como resultado se consiguió un polvo fino y homogéneo. Por cada 20 g de muestra se agregó 200 mL de etanol QP, esta solución se llevó a un equipo Soxhlet, donde permaneció por 72 h, la mixtura resultante se filtró y colocó en un rotoevaporador, en el siguiente paso, se secó el producto en una estufa por 48 h. La muestra final, consistente en un polvo fino, se colocó en un envase hermético hasta su posterior uso.

Exploración del dolor con la prueba de retirada de la cola (Tail Flick Test)

Se utilizó calor irradiado, incidiendo un haz de luz en la unión del tercio distal y medio de la cola del roedor, y finalizó cuando el roedor retiró la cola, midiendo el tiempo de latencia.^{15-20,31} Se empleó un algesímetro modelo 33. IITC INC. Se fijó un tiempo límite de 10 segundos de incidencia de haz de luz, para evitar daño tisular en la cola¹⁷ y mantener la naturaleza térmica del estímulo. Se estableció una intensidad y radiación de 10, para una retirada de la cola o tiempo de latencia establecido de 3 a 5 segundos.

Se colocó cada ratón en un dispositivo de tipo embudo para reducir su movilidad, luego se colocó la cola del roedor en el algesímetro; seguido se incidió el haz infrarrojo en el tercio medio de la cola. La medición del período de latencia se realizó en de la manera siguiente: previa administración de las sustancias; la segunda al minuto 30 y se continuó cada 30 minutos, por un período total de 3 h.

Durante todas las mediciones, se mantuvo un diseño de doble ciego, en el cual el administrador de las sustancias y el operador desconocían el origen de las mismas.

La asignación de grupos experimentales fue hecha por randomización, con la técnica de aleatorización por moneda sesgada. Los grupos experimentales fueron los siguientes:

1. Grupo control: no se administró ninguna sustancia.
2. Grupo placebo: recibió agua destilada por vía oral (V.O.), 0.1 mL/10 g de peso corporal.
3. Grupo chuchuhuasi 1 000 mg: recibió extracto etanólico de las hojas de *M. macrocarpa*, 1 000 mg/kg por V.O.
4. Grupo chuchuhuasi 1 500 mg: recibió extracto etanólico de las hojas de *M. macrocarpa*, 1 500 mg/kg por V.O.
5. Grupo Tramadol o control positivo: recibió Tramadol, 10 mg/kg V.O.

Ética de la investigación

Se siguieron los lineamientos del *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal* (1985), y la Declaración sobre el uso de Animales en la Investigación Biomédica.³² Se aseguró la comodidad del alojamiento y la disponibilidad de comida balanceada.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como medias con desviación estándar para las variables cuantitativas y para las cualitativas como proporciones y frecuencias. Asimismo se calculó el MPE (efecto máximo posible o maximal possible effect), con la siguiente fórmula:

$$\text{MPE (\%)} = \frac{P.L. \text{ Post} - P.L. \text{ Pre}}{T.L.E. - P.L. \text{ Pre}} \times 100$$

Dónde:

- MPE (%) = efecto máximo posible o maximal possible effect
- P.L. Post = Período de latencia no perdido.
- P.L. Pre = Período de latencia pre exposición.
- T.L.E = Tiempo de latencia establecido (5 segundos).

La validación estadística se basó en la prueba de Kruskal-Wallis, determinando la normalidad de la población. Se usó la prueba de ANOVA de una cola y la prueba de comparación múltiple de Tuckey, considerando la significación estadística con un $p < 0,05$. Se determinó la homocedasticidad de los grupos con la prueba de Bartlett. El programa estadístico que se utilizó fue GraphPadPrism Versión 5.01.

RESULTADOS

En los resultados de los experimentos, tanto el Tramadol, como el chuchuhuasi, tuvieron una acción superior a la del control (Fig. 1). El efecto máximo posible (MPE) determinó un resultado distinto, en el cual solo la acción del Tramadol es superior a la del control (Fig. 2 y tabla).

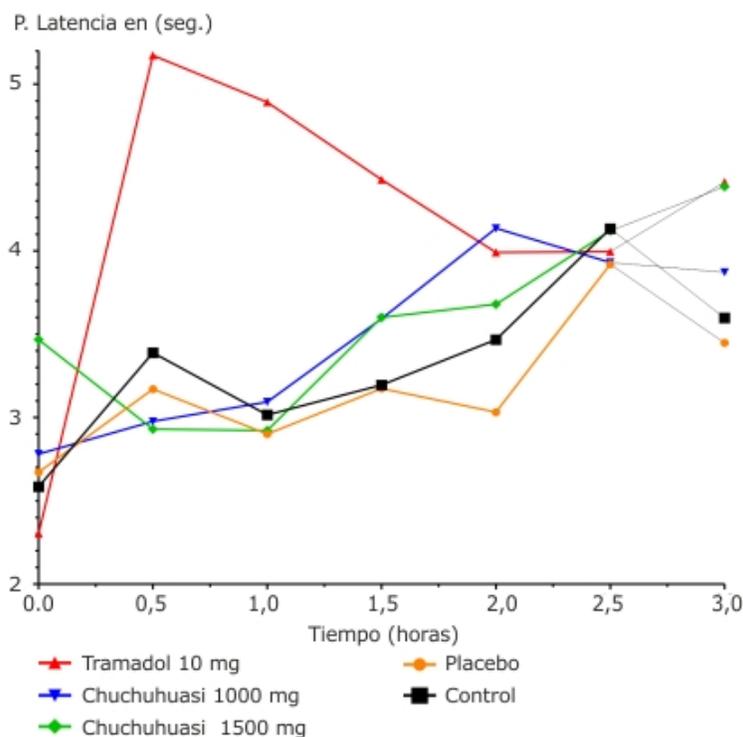


Fig. 1. Evaluación de la actividad analgésica de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en el modelo de dolor de retirada de la cola (Tail-Flick Test).

Según los resultados del Test de Kruskal-Wallis vemos que todos los grupos siguen una aproximación Gaussiana.

En los resultados obtenidos en la prueba de ANOVA, se observó un $p < 0,05$ (IC 95 %), en el grupo que recibió Tramadol, en el caso de los grupos con chuchuhuasi, el valor $p > 0,05$ (IC 95 %).

La prueba de comparación de Tuckey, reveló un valor $p < 0,05$ (IC 95 %) entre los grupos Tramadol y placebo. Los cambios fueron significativos ($p < 0,05$, IC 95 %), a la media hora y a la primera hora.

En la comparación múltiple (Prueba de Tuckey), para los porcentajes de MPE, solo el grupo que recibió Tramadol, presentó diferencias significativas ($p < 0,05$, IC 95 %).

La prueba de Bartlett, denotó que todos los grupos presentaron homocedasticidad, con excepción del grupo placebo y del grupo con chuchuhuasi a 1 g, siendo el valor p de los grupos los siguientes: Tramadol= 0,0001, chuchuhuasi 1g= 0,0553, chuchuhuasi 1,5 g= 0,0089, Placebo= 0,08 y Control= 0,001.

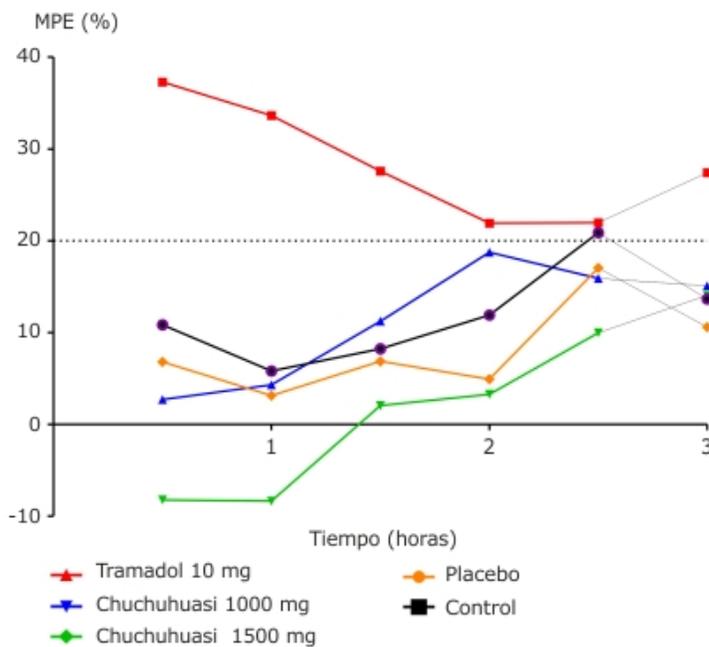


Fig. 2. Comparación del máximo efecto analgésico posible del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en la prueba de retirada de la cola (Tail-Flick Test).

Tabla. Comparación del porcentaje de MPE del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en la prueba de retirada de la cola (Tail Flick Test)

Tiempo (minutos)	Tramadol 10 mg	Chuchuhuasi 1000 mg	Chuchuhuasi 1500 mg	Placebo	Control
30	37,2943	2,692093	-8,219391	6,812807	10,84142
60	33,64369	4,317511	-8,357141	3,133527	5,816251
90	27,59397	11,22552	2,035714	6,862836	8,238939
120	21,91668	18,75692	3,265307	4,925414	11,90219
150	21,98164	15,91245	9,989794	17,03202	20,88727
180	27,41642	15,09512	14,05102	10,60124	13,65516

DISCUSIÓN

El efecto analgésico de las hojas de *Maytenus macrocarpa*, en la prueba de retirada de la cola (Tail Flick Test), reveló falta de significación estadística. Esto podría indicar que el mecanismo de acción antinocioceptivo de las hojas de *M. macrocarpa*, no radicaría en la vía de la nocicepción, dejando en el lindero otras potenciales vías que posiblemente median el efecto analgésico de esta planta, cuyo uso tradicional valida tal uso terapéutico.^{1,8,22}

En la evaluación del Tramadol, y su relación con el grupo placebo, fueron los únicos resultados con significación estadística, lo cual es congruente, debido a que el Tramadol es efectivo en este tipo de estudios.^{33,34} Sin embargo, esta significación estadística se observó recién a los 30 minutos, probablemente porque la eficacia de este fármaco para este modelo, es mejor cuando se administra por la vía subcutánea o peritoneal,³⁰ o con dosis mayores (15 mg/kg);³⁶ lo que explicaría la significancia en el MPE.

Aunque no fue significativo, el efecto antinociceptivo de *M. macrocarpa* (chuchuhuasi), en la dosis de 1 000 mg/kg, superó al grupo control desde el minuto 90, por esto, es posible sugerir que a dosis inferiores podrían presentar una mejor eficacia analgésica, esta hipótesis puede también respaldarse en otras investigaciones en las que se han demostrado efectos farmacológicos de esta planta en dosis inferiores a 1 250 mg/kg,^{9,37,38} situación que deberá explorarse en estudios futuros.

Al comparar este estudio con similares investigaciones publicadas, observamos que ciertas especies del género *Maytenus* (*M. rigida* y *M. aquifolium*), han demostrado un efecto analgésico en la prueba de retirada de la cola,⁹⁻¹¹ la cual evalúa efectos analgésicos por estimulación de nociceptores que median calor, hacia regiones de la médula espinal.^{20,22,31}

Por otra parte, las especies *M. Krukovii* y *M. macrocarpa*, evidencian actividad analgésica en la prueba de contorciones abdominales,^{14,39} asimismo, se ha corroborado el efecto antiinflamatorio de las especies *M. heterophylla*, *M. senegalensis* y *M. rigida*, en la prueba de edema plantar por carragenina.^{11,40-43}

Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio para las hojas de la especie *M. macrocarpa*, y el contraste con las especies antes citadas, sugiere una variabilidad en los mecanismos de acción antinociceptivos para el género *Maytenus*, proponiendo la posibilidad de la existencia de especies con predominio de la actividad antinociceptiva y otras con predominio de la actividad antiinflamatoria; ambas vías, podrían estar imbricadas, lo cual generaría el efecto analgésico final, explicación que podría ser la razón del uso en la praxis tradicional.

También se debe tener en consideración, que el conocimiento popular orienta al uso de las distintas partes de la planta, así por ejemplo, para *M. macrocarpa*, se estipula el uso del extracto alcohólico de la corteza para la analgesia y de las hojas para el sangrado.²²

Es importante sentar las limitaciones que se presentaron en este estudio, y también el número de la población de animales utilizada y la disponibilidad únicamente de hojas de *M. macrocarpa*.

Finalmente, aunque los resultados de nuestra investigación no fueron estadísticamente significativos, se ha demostrado en las dosis exploradas, un efecto analgésico central leve, del extracto etanólico de las hojas de *M. macrocarpa*.

AGRADECIMIENTOS

Por su apoyo inmensurable y colaboración: al Dr. Frank Lizarazo Cáparo, Decano de la FMH-USMP, al Dr. Benjamín Castañeda Castañeda, Director del Instituto de

Investigación de la FMH-USMP, a los profesores MSc. Ángel Alvarado Yarasca y Dra. Berta Loja Herrera, a los universitarios Mónica Alexandra López Murga, Alejandro Jesús Barrientos Herrera, y al Técnico del Bioterio de la FMH-USMP, Sr. Carlos Pante Medina.

FINANCIAMIENTO

Co-financiamiento entre los autores y la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres.

REFERENCIAS BLIOGRÁFICAS

1. Brak Egg A. La biodiversidad del Perú y su importancia estratégica [Internet]. Asociación Cultural Ecoturística de Recuperación "Montaña" [citado 10 noviembre 2012]. Disponible en: <http://acermontania.org/miscelaneas/articulos/biodiversidad/192-la-biodiversidad-del-peru-y-su-importancia-estrategica>
2. Diversidad de especies [Internet]. Lima: Ministerio de Agricultura y Riego. [citado 8 julio 2013]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/portal/sector-agrario/recursos-naturales/recurso-biodiversidad/diversidad-de-especies>
3. Palacios Lozada E. Economía y plantas medicinales. Facultad de Ciencias Económicas de la UNMSM [serie en internet]. Boletín 52. [citado Jun 2004, consultada 10 Ago 2010]. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/consejo/boletin52/Pdf/a04.pdf>
4. Traditional Medicine [Internet]. Ginebra: World Health Organization; 2013 [citado 8 julio 2013]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/
5. Comercio Nacional e Internacional [Internet]. Loreto: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. [citado 9 julio 2013]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/promamazonia/SBiocomercio/Upload/Lineas/Documentos/20.pdf>
6. Chuchuhuasi [Internet]. Lima: Sistema Integrado de Información y Comercio Exterior. [citado 9 julio 2013]. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/72pdf2012Mar21.pdf>
7. Compras Perú [Internet]. Lima: Compras Perú; 2013. [citado 9 julio 2013]. Disponible en: http://comprasperu.com/advanced_search_result.php?keywords=chuchuhuasi&search_in_description=1&x=-283&y=-510
8. Chuchuhuasi [Internet] La Habana: Enciclopedia Colaborativa en la Red Cubana. [citado 9 julio 2013]. Disponible en: <http://www.ecured.cu/index.php/Chuchuhuasi>
9. Martins Marina V, Estevam Charles dos S, Santos André LLM, Dias Antonio S, Cupertino-da-Silva YK, Araújo-Júnior JK, *et al.* Antinociceptive effects of an extract,

- fraction and an isolated compound of the stem bark of *Maytenus rigida*. Rev. bras. farmacogn. 2012;22(3):598-603.
10. Mokoka T, Mc Gaw L, Mdee L, Bagla V, Iwalewa E, Eloff J. Antimicrobial activity and cytotoxicity of triterpenes isolated from leaves of *Maytenus undata* (Celastraceae). BMC Complement Altern Med. 2013;13:111.
11. da Silva G, Serrano R, Silva O. *Maytenus heterophylla* and *Maytenus senegalensis*, two traditional herbal medicines. J Nat Sci Biol Med. 2011;2(1):59-65.
12. Santos R, Coulaud S, Colaço W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. Rev. bras. farmacogn. 2009 June;19(2b):650-659.
13. Huaccho-Rojas J, Cavero-Augilar E, Quezada-Rojas M, Lara-Paredes A, Lluen-Escobar S, Paragulla-Bocángel A, et al. Efectos sobre la temperatura, frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y electrocardiograma de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi). Rev Cubana Plant Med. 2012;17(3):233-243.
14. Salazar A, Santa-Maria J, Zimic C, Salinas I, Sánchez L, Arrambide J, et al. Antinocicepción opioide del extracto metanólico del Chuchuhuasi (*Maytenus krukovii*) en un modelo de dolor visceral en ratón. Horiz Med. 2006;6(2):135-140.
15. Ouchi K, Sekine J, Koga Y, Nakao S, Sugiyama K. Establishment of an animal model of epidural anesthesia and sedative tail-flick test for evaluating local anesthetic effects in rats. Exp Anim. 2013;62(2):137-44.
16. Bannon A, Malmberg A. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. Curr Protoc Neurosci. 2007 Oct;(8):8-9.
17. Dunder R, Luiz-Ferreira A, Almeida A, De-Faria F, Takayama C, Socca E, et al. Applications of the hexanic fraction of *Agave sisalana* Perrine ex Engelm (Asparagaceae): control of inflammation and pain screening. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(3):263-271.
18. Ouchi K, Sekine J, Koga Y, Nakao S, Sugiyama K. Establishment of an animal model of epidural anesthesia and sedative tail-flick test for evaluating local anesthetic effects in rats. Exp Anim. 2013;62(2):137-44.
19. Cruz R, Galdino P, Penna K, Hoffmann K, Costa E, Bataus L. Acetone extract from *Streptovorticillium* sp., a bacterium isolated from Brazilian Cerrado soil, induces anti-inflammatory activity in mice. An Acad Bras Cienc. 2013;85(2):595-603.
20. Lv S, Yang YJ, Hong S, Wang N, Qin Y, Li W, et al. Intrathecal Apelin-13 Produced Different Actions in Formalin Test and Tail-flick Test in Mice. Protein Pept Lett. 2013;20(8):926-31.
21. Silva J, Silva M, Prado W. Analgesia induced by 2 or 100 Hz electroacupuncture in the rat tail-flick test depends on the activation of different descending pain inhibitory mechanisms. J Pain. 2011;12(1):51-60.
22. Salazar A, Loja B, Rabanal A, Mestanza S, Heringman K, Pinedo D, et al. Comparación de los usos del Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) entre indígenas Bora-Bora de Loreto y chamanes de Lima (Perú). Revista de Fitoterapia. 2013;13(1):61-69.

23. U.S. Food and Drug Administration [sede Web]. USA: U.S. Department of Health & Human Services; [citado 9 de noviembre de 2010]. De Costumer Affairs Branch. Transfer of Therapeutic Products to the Center for Drug Evaluation and Research. Disponible en:
<http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CBER/ucm133463.htm>
24. U.S. Food and Drug Administration [sede Web]. USA: U.S. Department of Health & Human Services; [citado 9 de noviembre de 2010]. De Office of Special Health Issues. Access to Investigational Drugs. Disponible en:
<http://www.fda.gov/ForConsumers/ByAudience/ForPatientAdvocates/AccessToInvestigationalDrugs/default.html>
25. Cerrate, E. 1969. Manera de preparar plantas para un Herbario. Museo de Historia Natural, Serie de Divulgación, No. 1. 10 pp.
26. Brako L, Zarucchi JL. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. *Monogr Syst Bot Mo Bot Gard*. 1993;45:1-1286.
27. Macbride JF. Celastraceae, Flora of Peru. *Publ Field Mus Nat Hist Bot Ser*. 1951;13:259-270.
28. Vázquez Martínez R. Flórua de las reservas biológicas de Iquitos, Perú: Allpahuayo-Mishana, Explornapo Camp, Explorama Lodge. *Monogr Syst Bot Mo Bot Gard*. 1997;63:1-1046.
29. Funk VA, Hollowell TH, Berry PE, Kelloff CL, Alexander SN. Checklist of the plants of the Guiana Shield (VENEZUELA: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; GUYANA, SURINAME, FRENCH GUIANA). *Contrib U S Natl Herb*. 2007;55:1-584.
30. Killen TJ, Schulenberg TS. A biological assessment of Parque Nacional Noel Kempff Mercado, Bolivia. *Rapid Assess Program Work Pap*. 1998;10:1-372.
31. D'Amour F, Smith D. A Method for Determining Loss of Pain Sensation. *J Pharmacol Exp Ther (JPET)*. 1941;72(1):74-90.
32. Declaración sobre el uso de Animales en la Investigación Biomédica. 41^a Asamblea Médica Mundial. Pilanesberg, Sudáfrica: Asamblea General de la Asociación Médica Mundial; 2006.
33. Okulicz-Kozaryn I, Leppert W, Mikolajczak P, Kaminska E. Analgesic effects of tramadol in combination with adjuvant drugs: an experimental study in rats. *Pharmacology*. 2013;91(1-2):7-11.
34. Guneli E, Karabay-Yavasoglu N, Apaydin S, Uyar M, Uyar M. Analysis of the antinociceptive effect of systemic administration of tramadol and dexmedetomidine combination on rat models of acute and neuropathic pain. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2007;88(1):9-17.
35. Cannon C, Kissling G, Hoenerhoff M, King-Herbert A, Blankenship-Paris T. Evaluation of dosages and routes of administration of tramadol analgesia in rats using hot-plate and tail-flick tests. *Lab Anim (NY)*. 2010;39(11):342-351.
36. Finniss D, Kaptchuk T, Miller F, Benedetti F. Biological, clinical and ethical advances of placebo effects. *The Lancet*. 2010;375(9715):686-695.

37. Casanova-Luque G, Rodríguez-Melo M, Salazar-Carrillo Y, Talledo-Madrid P, Torres-Reyna M, Ugarte-Basurto R, *et al.* Dosis respuesta en la actividad antinociceptiva de los flavonoides de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) en dolor visceral en ratón. Catálogo de Investigación del Instituto de Investigación de la FMH-USMP, 2009.
38. Villegas-Ríos E, Marino-Segura C, Novoa-Aliaga L, Tito-Pizarro A, Rospigliosi-Herrera R, Sánchez-Menacho C, *et al.* Actividad dosis respuesta sobre la motilidad intestinal *in vivo* e *in vitro* del extracto de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). Catálogo de Investigación del Instituto de Investigación de la FMH-USMP, 2009.
39. Alosilla-Uscamaita A, Chaves-Palomares F, Ascaño-Ramírez A, Cornejo-Liñán M, Huamán-Castro C, Medina-Morales J, *et al.* Acción del extracto etanólico de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz. Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) sobre la motilidad intestinal. Horiz Med. 2013;13(2):6-11.
40. da Silva G, Taniça M, Rocha J, Serrano R, Gomes ET, Sepodes B, Silva O. In vivo anti-inflammatory effect and toxicological screening of *Maytenus heterophylla* and *Maytenus senegalensis* extracts. Hum Exp Toxicol. 2011 Jul; 30(7):693-700.
41. dos Santos-Vanda L, Costa-Viviam B, Agra M, da Silva-Bagnólia A, Batista-Leônia M. Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rigida* Mart (Celastraceae) in animal models. Rev. bras. farmacogn. 2007;17(3):336-342
42. Haider S, Nazreen S, Alam M, Hamid H, Alam M. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Platanus orientalis* Linn. and its ulcerogenic risk evaluation. J Ethnopharmacol. 2012 Aug 30; 143(1):236-40.
43. Miranda H, Santos-Quinta B. Actividad analgésica y antiinflamatoria de paracetamol e ibuprofeno en dolor agudo experimental [tesis doctoral]. Chile: Facultad de Odontología de la Universidad de Chile; 2006.

Recibido: 7 de septiembre de 2013.

Aprobado: 22 de mayo de 2014.

Dra. Angélica M. León Fernández. Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología, Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú. Correo electrónico: angelica_ich234@hotmail.com